

ARTICLES ORIGINAUX

Les virus-vaccins contre la peste bovine : Le virus bovinepestique lapinisé

I. — Revue des travaux

II. — Recherches effectuées au Laboratoire de Dakar

par P. MORNET, J. ORUE, C. LABOUCHE, P. MAINGUY

(avec la collaboration de R. MAHOU)

Après un bref rappel des acquisitions antérieures sur les virus-vaccins antipestiques, nous exposerons l'état des recherches effectuées par divers laboratoires sur le virus bovinepestique lapinisé, nous réservant de traiter dans une deuxième partie les travaux effectués au Laboratoire de Dakar sur ce virus.

I. — REVUE DES TRAVAUX

A) LES VIRUS-VACCINS ANTIPESTIQUES

Si la vaccination contre la peste bovine à l'aide des pulpes d'organes formolées (C. Curasson et L.-P. Delpy, 1926) ou additionnées d'un autre anti-septique, a constitué pendant une quinzaine d'années un élément important de la prophylaxie en A.O.F. et dans de nombreux autres pays, et reste encore très utilisée, les recherches sont depuis longtemps orientées par divers laboratoires vers l'obtention d'un virus-vaccin vivant atténué.

La multiplication du virus-vaccin dans l'organisme bovin confère une immunité durable, mais la réaction recherchée doit être faible pour ne pas ébranler, de façon excessive, l'équilibre organique. D'autre part, l'animal vacciné ne doit pas, dans les conditions naturelles, être une source de contagion pour l'animal sain.

Ces conditions étant difficilement réalisables en utilisant les bovins comme support d'un virus atténué, divers artifices sont mis en œuvre pour adapter le virus bovinepestique à des animaux normalement réfractaires ou peu réceptifs.

Virus bovinepestique caprinisé.

J.-T. Edwards (1927) à Mukteswar (Inde) fait les premiers essais d'adaptation sur chèvre du virus bovinepestique par passages successifs. En 1936, l'atténuation est jugée suffisante pour autoriser la vaccination de plus d'un million d'animaux. Puis R. Daubney (1937) au Kenya, R.-W.-M. Mettam (1938) en Nigeria, J. Pagot (1945), H. Girard et Charitat

(1947), A. Lalanne (1948) en A.O.F., vulgarisent cette méthode.

Cependant, malgré ses avantages certains, outre sa fragilité (commune à tous les virus-vaccins anti-pestiques), le virus caprinepestique demeure trop virulent pour certaines races bovines (en A.O.F. les N'Dama et dérivés). Par ailleurs, la réceptivité des chèvres inoculées pour la préparation est très variable (suivant la race ou les sujets) et le « déchet », avant inoculation, important.

Lalanne (1952) cite les chiffres suivants pour l'année 1951 :

Sur 1.789 chèvres achetées par le Laboratoire de Bamako, 715 seulement sont utilisées, soit 40 % environ (172 mortes avant inoculation, 169 après inoculation mais avant abattage, 733 réfractaires ou à réaction douteuse). Ce qui augmente le prix de revient du vaccin et complique les opérations de laboratoire.

L'impossibilité d'obtenir un virus caprinepestique suffisamment atténué pour certaines races bovines très réceptives entraîne quelques chercheurs à le « sous-adapter » sur lapin ou sur embryon de poulet.

Virus avianisé.

En 1946, R.-E. Shope et coll. publient les essais de culture de virus bovinepestique (souche Kabete « 0 ») sur œuf embryonné, effectués au cours de la dernière guerre à Grosse-Isle (Canada). Des expériences à peu près semblables, sensiblement à la même époque, menées par J. Nakamura et coll.

sont publiées en 1947. Reprises en 1948, elles portent alors sur l'avianisation du virus bovipestique lapinisé et son atténuation pour le bétail hautement réceptif du Japon et de Corée (1).

Ces travaux ne sont pas encore sanctionnés par la pratique.

Virus adapté sur porc.

Certains suidés sauvages (phacochères en A.O.F.) peuvent contracter la peste bovine au cours d'épizooties sur le bétail, et le porc domestique manifester l'infection expérimentale par de l'hyperthermie, et plus irrégulièrement par des signes cliniques.

J.-R. Hudson et C. Wongsongarn (1950) ayant constaté que le virus capripestique est trop virulent pour l'immunisation du bétail du Thaïlande et le virus lapinisé difficile à obtenir en grandes quantités, inoculent ce dernier à des porcs autochtones (ceux importés d'Europe n'étant pas réceptifs). Le virus ainsi obtenu permet l'immunisation des buffles.

Virus adapté sur cobaye.

J.-A. Baker, J. Terrence et A.-S. Greig (1945) réussissent l'adaptation du virus bovipestique et la variante « lapinisée » sur cobaye.

Virus lapinisé.

L'infection du lapin par le virus bovipestique est recherchée par J.-T. Edwards (1924-1927), H. Jacotot (1932), J. Nakamura et coll. (1938), J.-A. Baker (1944); S.-C. Cheng (1946) introduit la méthode dans la pratique et J.-G. Brotherston (1951) fait une étude étendue du virus au laboratoire et en brousse.

B) LE VIRUS BOVIPESTIQUE LAPINISÉ

1° Au laboratoire

a) CHEZ LE LAPIN.

L'animal le plus convenable pour l'étude du virus lapinisé est le sujet, mâle ou femelle (hors les femelles gestantes) âgé de 4 mois à 4 mois 1/2, pesant environ 1 à 1,500 kg (2). La race n'intervient pas.

La température normale du lapin, selon J.-G. Brotherston est de 38°3 le matin, 39°1 le soir (à Kabete, Kenya). L.-A. Martin (1953) étudiant les virus poliomyélitiques, à l'Institut Pasteur de Casablanca, indique que la majorité des animaux employés par lui ont une température oscillant entre 38°8 et 39°8, certains se maintenant normalement autour de 40° C.

(1) Travaux de l'Institut Japonais de Biologie, Akebenocho, Tachikawa, Tokio.

(2) Nous verrons qu'en réalité dans un élevage bien conduit, les lapins pèsent 1,500 kg à 2 mois.

Le volume moyen de sang, le poids moyen de la rate et des ganglions mésentériques (matériel antigène normalement utilisé) du sujet sain n'ont pas fait l'objet de recherches suivies. L.-A. Martin donne, pour la rate, le poids de 0,300 à 0,600 g et indique que le rapport : $\frac{\text{poids de la rate (en g)}}{\text{poids du lapin (en g)}} \times 1.000$ est généralement inférieur à 1.

LE VIRUS.

Des divers virus utilisés, la souche Nakamura III, est la mieux adaptée et la plus stable.

Après avoir subi 795 passages sur lapin, à Nankin, elle est envoyée par avion, en 1946, à Kabete (Kenya) et de là, en Nigeria, Gambie, Sierra Leone, Gold Coast, Afrique occidentale française (Dakar).

Le virus (sang, rate, ganglions) est utilisé frais ou congelé-desséché sous vide (lyophilisé).

Il peut être introduit dans l'organisme du lapin par diverses voies : intraveineuse, sous-cutanée, intrapéritonéale. La méthode la plus régulièrement efficace pour les passages est constituée par la voie veineuse avec du sang frais, ou un mélange sang-rate-lymphe ganglionnaire, mis en suspension en eau physiologique et centrifugé (à 2.000 tours pendant dix minutes).

Pour réduire le nombre des passages, un broyat d'organes (rate, ganglions mésentériques) additionné de sang et filtré, puis lyophilisé, est conservé à — 20°, — 30° C.

Le virus lapinisé ne se transmet pas par contact de lapin inoculé à lapin sain.

SYMPTOMATOLOGIE.

La poussée thermique, premier signe de l'infection, se produit habituellement au bout de trente-six à quarante-huit heures (24 heures parfois).

Les signes généraux : inappétence, apathie, respiration accélérée, signalés par divers auteurs, sont souvent discrets.

L'apparition d'une montée thermique brutale de 1 à 2° C est le symptôme cardinal. La température se maintient pendant deux jours environ, puis redevient normale. J.-A. Baker (1944) signale également la diarrhée.

Il existe un léger décalage thermique suivant qu'on emploie du virus frais ou desséché ; le premier donne une réaction plus rapide et le second une réaction semblable mais décalée par suite de l'augmentation du temps d'incubation.

J.-G. Brotherston, comparant les réactions consécutives à l'utilisation de l'un ou l'autre matériel, ne trouve pas de différences symptomatologiques sur 363 lapins.

La mortalité consécutive à l'inoculation serait, d'après Nakamura, de 87 % et la plupart des sujets

succombent à l'infection entre cinq et neuf jours après inoculation. S.-C. Cheng donne un taux de mortalité de 60 %.

Le virus est trouvé dans le sang, la rate, les ganglions mésentériques, l'urine.

LÉSIONS.

Il existe en général un lacis hémorragique sur la séreuse de l'estomac et du gros intestin. La muqueuse de l'estomac, de même celle de l'intestin, est parfois congestive. Mais les lésions les plus accusées et les plus constantes portent :

a) sur la rate : hypertrophiée et congestionnée,
b) les formations lymphoïdes : plaques de Peyer, *sacculus rotundus*, appendice terminal du cæcum (1) (*tonsilla cæcalis major*) qui s'hypertrophie en « individualisant » les nodules lymphoïdes.

Les ganglions hypertrophiés sont succulents et entourés fréquemment d'une exsudation séro-gélatineuse.

Selon S.-C. Cheng, ces lésions ne seraient pas pathognomoniques : la salmonellose à *S. typhimurium* provoquerait les mêmes désordres. J.-G. Brotherston ne retrouve pas ce micro-organisme dans les lésions.

HISTO-PATHOLOGIE.

Les auteurs mettent l'accent sur la diminution des lymphocytes, la prolifération des cellules réticulo-endothéliales, puis la nécrose des centres germinatifs dans les formations lymphoïdes.

TITRAGE DU VIRUS.

Dose minima infectante (D.M.I.).

Pour J. Nakamura :

1 g ganglion (frais) contient 1.000.000
à 10.000.000 D.M.I.

Selon S.-C. Cheng, avec du matériel frais :

1 cm³ sang contient 1.000 à 10.000 D.M.I.

1 g rate contient 10.000 à 100.000 D.M.I.

1 g ganglion contient 100.000 à 1.000.000 D.M.I.

— avec du matériel desséché :

1 g de virus contient 100.000 D.M.I.

(1) M. le Professeur Bressou, Directeur de l'École Vétérinaire d'Alfort, a bien voulu nous fournir les renseignements suivants et nous l'en remercions vivement : « Ce que les auteurs étrangers appellent *tonsilla cæcalis major* correspond à « l'appendice terminal du cæcum » (F. Lesbre) et, en fait, à l'appendice de l'homme.

Cette région, épaissie dans ses parois, est constituée par du tissu lymphoïde en tout semblable aux amygdales (d'où *tonsilla*) ou aux plaques de Peyer. En réalité ce n'est ni l'un ni l'autre de ces organes et le terme d'appendice terminal du cæcum suffit : « il ne préjuge en rien de sa nature en tout cas et ne prête à aucune confusion ».

D'après J.-G. Brotherston :

1 g de matériel *frais* contient 1.000.000 D.M.I.

(sang + rate + ganglions)

1 g de matériel *desséché* contient 100.000 D.M.I.

CONSERVATION DU VIRUS.

A l'état frais, à + 5° C, le virus reste vivant dans les ganglions lymphatiques, le sang et la rate pendant seize à vingt jours. A la température ordinaire du laboratoire (16 à 21° C) la virulence disparaît au bout de deux à trois jours et à 32-34° C au bout de quelques heures.

La solution phosphatée de Sorensen pH 7 permet une conservation plus longue à 22° C qu'une solution physiologique.

D'après S.-C. Cheng et coll. (1948) le virus lyophilisé conserve sa virulence à + 4° C, pendant cent cinq jours minimum.

J.-G. Brotherston indique que le virus semblablement traité, laissé à 18-27° C, perd graduellement sa vitalité :

Titre original	1 g = 100.000 D.M.I.
Au bout de 10 jours	1 g = 100.000 —
— 14 —	1 g = 10.000 —
— 30 —	1 g = 100 —
— 70 —	1 g = 100 —

Ce même virus, conservé entre — 20° C et — 30° C reste utilisable pendant vingt-cinq mois.

Le virus lapinisé est néanmoins plus fragile que le virus bovine ou le virus caprinisé.

b) CHEZ LE BŒUF.

Au cours des premiers passages chez le lapin, il n'est pas rare d'observer, lors de l'inoculation du virus au bœuf, des réactions plus ou moins fortes (fièvre, inappétence...). Mais avec la souche Nakamura III, après 700 passages, les réactions sont faibles ou inexistantes pour la plupart des races bovines.

A cette règle, quelques exceptions : Lee (cité par J. Nakamura, 1953) indique que les veaux de Corée sont encore sensibles au virus à son 1.000^e passage. Fukusho et Riesinger, avec la souche à son 900^e passage, observent sur 6 bovins japonais, des réactions importantes et 2 mortalités ; et sur des hollandais, des réactions thermiques nettes mais pas de mortalité.

En règle générale, les signes visibles de l'infection sont inexistantes, et c'est là d'ailleurs une des difficultés du test chez le bœuf. Le seul contrôle réel de l'établissement de l'immunité résultant de l'inoculation de virus lapinisé est l'injection de virus bovine.

Suivant les expériences de J.-G. Brotherston, on observe :

a) après l'injection de virus lapinisé : le plus

souvent, aucune réaction si ce n'est parfois une légère poussée thermique vers le 5^e, 6^e ou 7^e jour ;

b) à la suite de l'injection de virus bovipestique de contrôle, sept à quatorze jours après la vaccination, une réaction bénigne (légère hyperthermie, appétit diminué) ou nulle.

La quantité minima de matériel frais ou desséché pour immuniser un bœuf serait de 1 mg (selon J.-G. Brotherston) (1) par voie sous-cutanée (dans 1 cm³ d'eau physiologique) et de 2 mg en frais pour S.-C. Cheng.

Avec du vaccin lyophilisé dans de très bonnes conditions, la dose pourrait être abaissée à 1/10 de mg.

D'après S.-C. Cheng et coll. (1948), la dose minima infectante pour les lapins serait de 1 cm³ d'une dilution à 1/100.000^e de vaccin desséché, alors que la dose vaccinale minimum pour des veaux serait d'environ 1 cm³ d'une dilution à 1/2.500^e, soit quarante fois plus.

Selon J.-G. Brotherston, la D.M.I. pour les lapins serait de 1 cm³ d'une dilution à 1/100.000^e de vaccin desséché, alors que la quantité minimum vaccinale pour un bœuf serait de 1 cm³ d'une dilution à 1/1.000^e, soit cent fois plus.

L'immunité post-vaccinale est établie, d'après S.-C. Cheng, au bout de cinq jours ; d'après J.-G. Brotherston, au bout de trois jours et demi (84 heures) — quatre jours et demi (108 heures) et durerait au moins un an.

Les passages alternés (Kabete) du virus sur les bovins et les lapins semblent modifier son caractère : il devient atténué pour les lapins, et plus virulent pour les bœufs.

La cohabitation de bovins infectés (vaccinés) et d'animaux sains n'entraîne pas la contamination de ces derniers.

2^e Essais dans la pratique

PRÉPARATION DU VACCIN.

Des lapins, en bonne santé, âgés de 4 mois et demi et pesant environ 1.000 à 1.500 g (2), reçoivent par voie endoveineuse 1 cm³ de sang (non dilué) ou de suspension de ganglions lymphatiques (à 10 % par exemple) infectés. Ou encore 1 cm³ d'une dilution à 1/10^e de matériel desséché (sang, rate et ganglions). Au bout du 3^e ou 4^e jour (S.-C. Cheng) ou deux jours et demi à trois jours (entre la 60^e-72^e heure, J.-G. Brotherston) après l'injection, la température ayant atteint 40-41° C, les lapins sont sacrifiés. Seuls sont utilisés les sujets ayant présenté à la fois de la tempé-

rature et des lésions typiques des organes lymphoïdes.

Sont prélevés : le sang (par ponction cardiaque), la rate et les ganglions mésentériques. Le sang sert de liquide de dilution pour le broyage ultérieur (organes 1, sang 4 ou 5), effectué dans un « Waring blender » préalablement refroidi. Le broyat est filtré sur simple gaze, ou laine de verre, mis en ampoules et lyophilisé (congelé et desséché sous vide). L'humidité résiduelle de la poudre ainsi obtenue serait, d'après J.-G. Brotherston, de 1 à 2 %.

Le vaccin est conservé à — 20°, — 30° C.

MODE D'EMPLOI.

Au moment de l'emploi, on reconstitue la suspension avec de l'eau physiologique. La dose par bœuf qui est, en principe, de 1 mg de produit sec dans 1 cm³ d'eau physiologique, est calculée largement. (J.-G. Brotherston, dans les premiers essais, mettait vingt fois la dose minima.)

Étant donné la fragilité du virus, il est recommandé de le conserver sous glace depuis le moment de l'expédition jusqu'à celui de l'emploi. Les seringues elles-mêmes servant à l'injection sont refroidies et rechargées fréquemment pour éviter la destruction du virus au cours de manipulations trop longues. Il est conseillé (G.-R. Scott et J.-G. Brotherston, 1952) d'utiliser le vaccin dans la demi-heure suivant sa reconstitution.

RÉSULTATS.

Chine. — Le vaccin donne de bons résultats. En 1948, plus de 65.000 buffles et vaches laitières autochtones sont vaccinés avec du virus liquide frais, sans accident.

Dans la province de Kouang-Toung, 20.000 vaccinés sont l'objet d'observations suivies. 10 % des animaux seulement présentent des réactions bénignes dont les plus marquées se traduisent par de l'inappétence pendant un à deux jours.

L'immunité contrôlée chez un petit nombre de buffles est de quatorze mois.

Sur du bétail laitier importé des U.S.A. et comprenant 361 animaux, les réactions, classées suivant la température enregistrée, peuvent être divisées ainsi :

29,37 %	pas de fièvre ;
27,15 %	+
37,93 %	fièvre légère (1) ;
3,32 %	fièvre bénigne (1) ;
2,32 %	fièvre élevée.

(1) Nous donnerons notre opinion dans la deuxième partie de cette note.

(2) Voir *supra*, note *infra-marginale*.

(1) Texte français de la publication F.A.O. « Les vaccins contre la peste bovine ». En fait on ne voit pas très bien la différence entre une « fièvre légère » et une « fièvre bénigne ».

En se basant sur la race des sujets, la sensibilité observée est par ordre décroissant : Jerseyaise, Holstein, Shorthorn, Ayrshire.

Les autres symptômes notés sont : inappétence et réduction sensible de la sécrétion lactée chez certaines femelles.

La principale difficulté à résoudre pour vulgariser la vaccination est la production de lapins en quantité suffisante. Pour pallier cet inconvénient, on a pensé utiliser le virus de « réaction », c'est-à-dire le virus lapinisé présent dans le sang circulant au moment de la réaction de l'animal vacciné. Cette méthode est peu pratique étant donné la variété des réactions, et l'irrégularité de la courbe thermique.

Mongolie, Thaïlande. — Les résultats sont également satisfaisants.

Inde. — Datta S. et Dhanda M.-R. (1951) estiment que le virus lapinisé est le vaccin le plus convenable pour une prophylaxie massive dans l'Inde. Il confère un taux d'immunité suffisant, produit une faible réaction chez toutes les races bovines, les buffles, les moutons, les chèvres (1). Il se conserve bien, est bon marché et facile à administrer. Ces auteurs présentent un plan de vaccination obligatoire qui permettrait l'éradication de la maladie en cinq à dix ans.

Japon, Corée. — Les résultats sont moins bons, ce qui incite J. Nakamura et Miyamoto à « avianiser » le virus lapinisé.

Kenya, Ouganda, Tanganyika. — Les conclusions de J.-G. Brotherston sont les suivantes :

La virus-vaccin lapinisé n'est pas de préparation coûteuse ; on peut rapidement et exactement évaluer sur le bétail son pouvoir antigénique ; son innocuité est appréciable ; il n'a pas d'action néfaste sur les femelles pleines ni sur les vaches laitières ; l'immunité est rapidement acquise aussi est-il recommandable pour combattre les épizooties de peste bovine ; une ampoule de faible contenance renferme un grand nombre de doses de vaccin.

En Afrique orientale, il a été employé avec succès pour combattre la maladie en brousse, ce qui confirme les travaux de S.-C. Cheng et Fishman (1948) en Chine.

On a immunisé avec succès le bétail zébu indigène, celui issu de croisements à divers degrés de bétail européen et de zébu, les bovins de race européenne pure, et les animaux hypersensibles de race Ankole.

Nigeria. — La vaccination avec du matériel frais s'avérant trop délicate, c'est vers l'emploi de virus desséché que les expériences sont dirigées.

Sur les zébus du nord de la Nigeria, aucune réaction thermique ou autre n'est décelée, et l'immunité obtenue est irrégulière (contrôle avec le virus capripéristique desséché).

Les essais sont en conséquence poursuivis sur du bétail plus réceptif des régions du sud. Ceux-ci se révèlent plus sensibles, certains montrant une température plus ou moins nette et tous résistant au contrôle dix jours après.

Le fait que certains sujets sont infestés de trypanosomiase entraîne des incidents, aussi est-il recommandé de les traiter préventivement.

Gambie, Sierra Leone. — Le virus obtenu de Nigeria donne une bonne protection. 35.000 vaccinations pratiquées en 1951 en Sierra Leone.

Gold-Coast. — Le virus a la même origine que le précédent. Le matériel frais est surtout employé (dose par bœuf : 2 cm³ d'un mélange à 1 pour 40 de sang, rate, ganglions correspondant à 2 cg de matériel frais), les résultats obtenus avec le virus desséché de Vom (Nigeria) étant moins satisfaisants (2).

En 1950, 12.000 bœufs sans bosse sont vaccinés ; ils ne manifestent que de faibles réactions. En 1953 (2), le vétérinaire inspecteur d'Accra vaccinant des animaux d'un troupeau immunisé vingt-sept mois auparavant ne constate aucune réaction alors que sur 20 bœufs « neufs » 18 font des réactions thermiques nettes.

II. — RECHERCHES EFFECTUÉES AU LABORATOIRE DE DAKAR

A) SUR LE LAPIN.

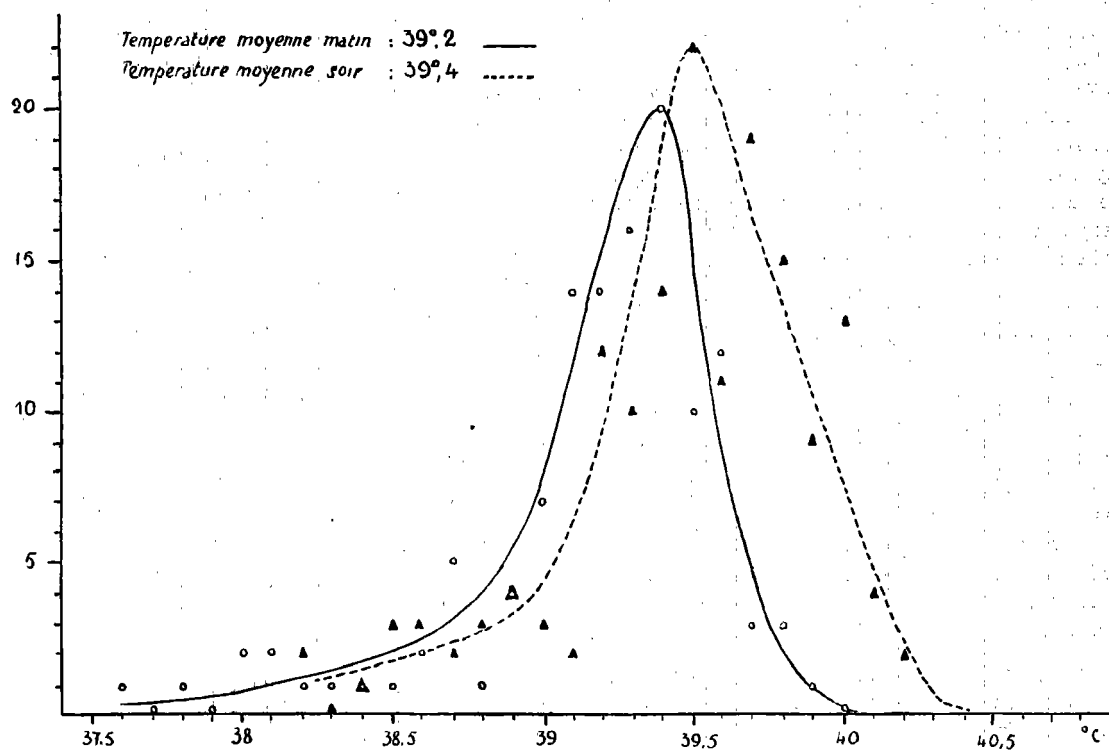
L'animal d'expérience. — Nous utilisons des lapins provenant de souche importées de France il y a quelques années et résultant du croisement du

géant des Flandres avec des sujets de race commune. Ils donnent satisfaction quel que soit le degré de sang.

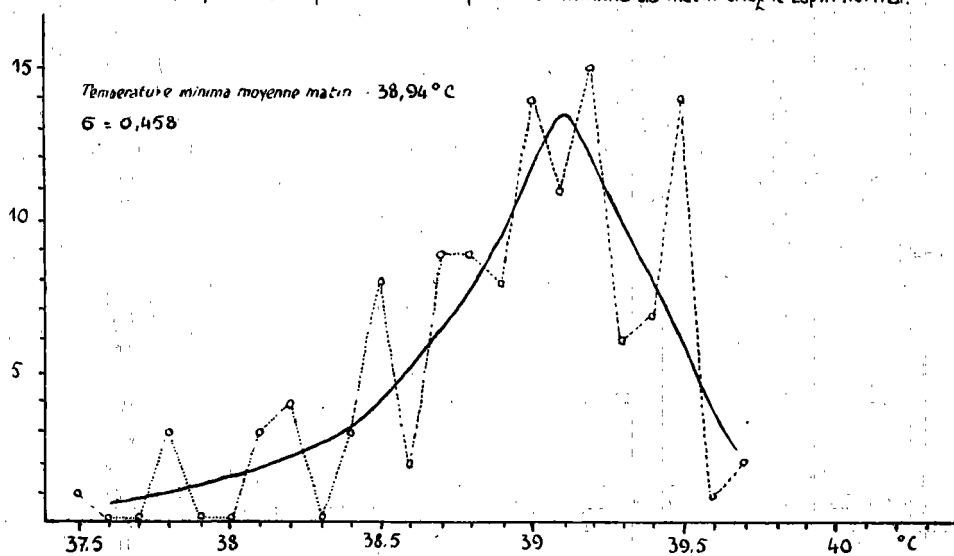
(1) Rappelons que dans l'Inde la peste bovine naturelle chez les ovins et caprins n'est pas rare (cf. H.-S. Bawa : « La peste bovine chez les moutons et les chèvres ». *Ind. J. Vet. Sc.* (1940) et W. Orr : « Observations de peste bovine chez des chèvres importées en Malaisie ». *J. Comp. Path.*, 55, 185, 1945).

(2) Communication personnelle de M.-S. Simpson, Directeur des Services vétérinaires de Gold-Coast.

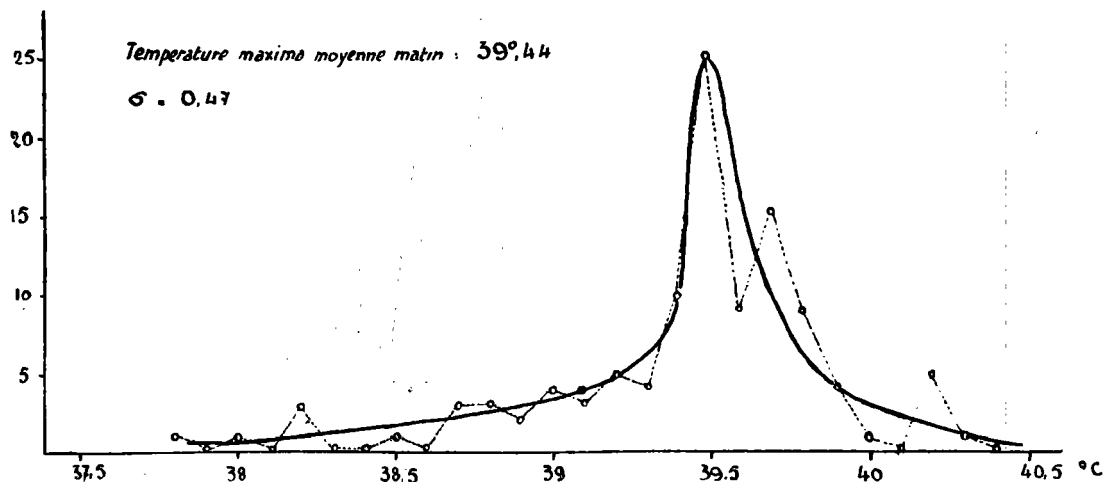
Graphique 1.- Répartition des Températures moyennes du matin et du Soir chez le Lapin normal.-



Graphique 2.- Répartition des Températures minima du matin chez le Lapin normal.



Graphique 3.- Répartition des Températures maxima du matin chez le Lapin normal.-



Nous nous conformons aux indications données par divers auteurs : les animaux inoculés sont âgés d'environ quatre mois mais par contre leur poids est supérieur à 1.500 g lorsque l'élevage est bien conduit. Nous obtenons en effet couramment des lapins de 1.500 g à 2 mois.

Température normale des lapins. — Les observations portent sur 160 lapins au cours d'une période de douze mois.

La température moyenne du matin est de 39°2 avec un écart type de 0°42.

La température moyenne du soir est de 39°4 avec un écart type de 0°41.

Il y a peu de différence entre les températures du soir et celles du matin, mais du point de vue statistique, cette différence est significative.

En résumé, le rythme nyctéméral chez le lapin a une faible amplitude.

Poids moyens (ou volume) des divers organes (ou fluides) du lapin normal. — Il serait sans nul doute très intéressant de connaître le poids des divers organes : rate, ganglions... du lapin normal pour mieux apprécier leur hypertrophie pathologique.

Nous n'avons pas trouvé de renseignements sur cette question dans la littérature, hors ceux fournis

par L.-A. Martin (*supra*) sur la rate. S.-K. Aikawa (1950) indique cependant pour le sang le chiffre de 70 cm³ (environ) pour un lapin de 2 à 4 kg.

Matériel virulent. — En 1949, une souche de virus lapinisé apportée à Dakar de Kabete (Kenya) n'a déterminé aucune infection après inoculation, son transport ayant été effectué dans de mauvaises conditions.

En 1952, une souche reçue de Bathurst (Gambie) et provenant aussi de Kabete (souche Nakamura III) a subi 39 passages, du 18 juillet 1952 au 29 juillet 1953 (avec une interruption de six mois, du 26 septembre 1952 au 24 mars 1953).

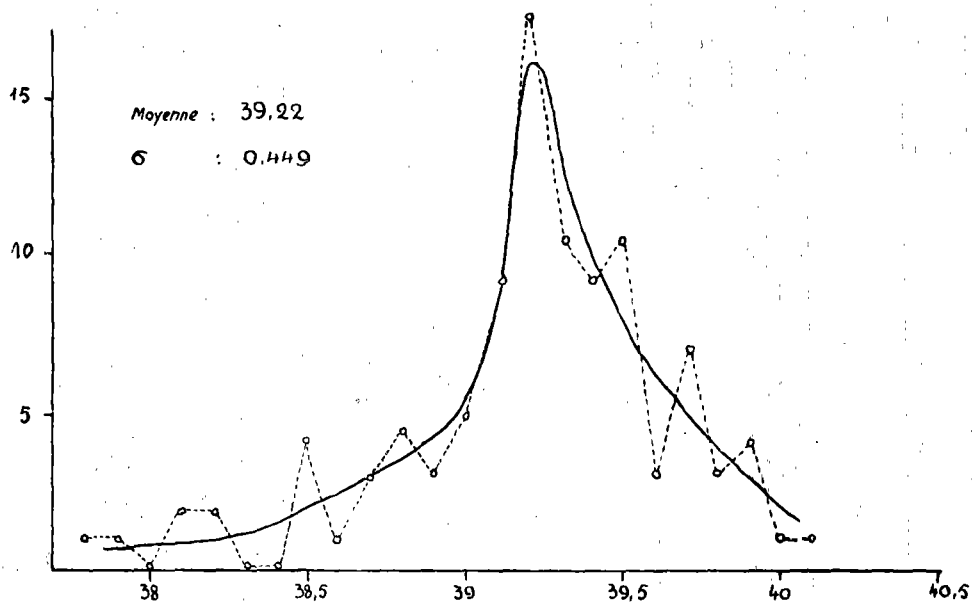
Au 12^e passage consécutif (26 septembre 1952) la souche fut desséchée sous froid, conservée à - 20° C et servit à recommencer les inoculations (13^e passage) le 24 mars 1953.

Les passages sont habituellement pratiqués par l'injection de 1 cm³ de sang dans la veine marginale de l'oreille.

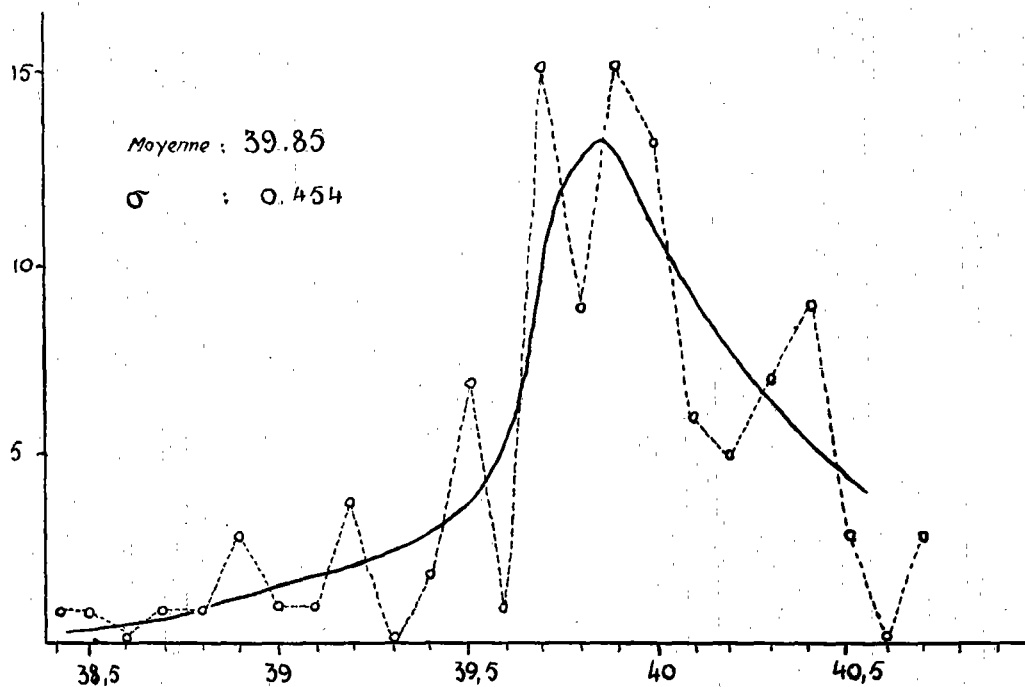
SYMPTOMATOLOGIE.

La maladie-type chez le lapin, telle que nous allons la décrire, est celle obtenue par l'inoculation de sang frais, par voie endoveineuse. La période

Graphique 4 -- Repartition des temperatures minima du Soir observees chez le Lapin normal



Graphique 5 -- Repartition des temperatures maxima du soir observees chez le lapin normal



d'incubation, temps séparant le moment de l'inoculation du début de la réaction thermique (1) est en moyenne de trente-trois heures, avec des variations allant de vingt-quatre à soixante heures.

Le signe principal de l'infection est l'élévation de température.

La moyenne des maxima sur 124 lapins est de 41°3 : nous avons relevé 40° — 41° dans 19 cas et 41° et plus dans 105 cas. Le maximum enregistré a été de 42°2.

L'hyperthermie moyenne par rapport à la température vespérale du jour de l'inoculation est de 1°8.

La fièvre se maintient élevée jusqu'à la 60^e heure, acmé de l'hyperthermie (minimum 24 heures; maximum 96 heures) puis redescend et vers la 72^e heure est redevenue normale.

Les lapins ne guérissent généralement pas de l'infection et meurent au bout d'un temps plus ou moins long (parfois plus de deux mois) (2), mais la mort dans certains cas peut être aussi bien attribuée aux affections intercurrentes (coccidiose) surajoutées. La diarrhée se manifeste assez rarement; nous l'avons constatée dans trois cas :

Sujet n° 10 : diarrhée 4 jours après inoculation, mort 25^e jour.

Sujet n° 19 : diarrhée 3 jours après inoculation, mort 4 jours et demi.

Sujet n° 27 : diarrhée (?) jours après inoculation, mort 6 jours et demi.

Nous ne faisons pas état des signes généraux de l'infection débutante, signalés par certains, tels que : accélération respiratoire, inappétence... car ils sont très inconstants.

Les réactions atypiques sont dans l'ensemble assez rares : elles se manifestent, soit par une courbe thermique irrégulière, à deux clochers, soit par une chute brusque après une poussée fébrile nette.

Les sujets réfractaires à la maladie expérimentale sont l'exception : à peine 1 %.

Différences enregistrées dans la période d'incubation suivant le matériel utilisé et la voie d'introduction :

a) sang, par voie sous-cutanée : la période d'incubation est allongée;

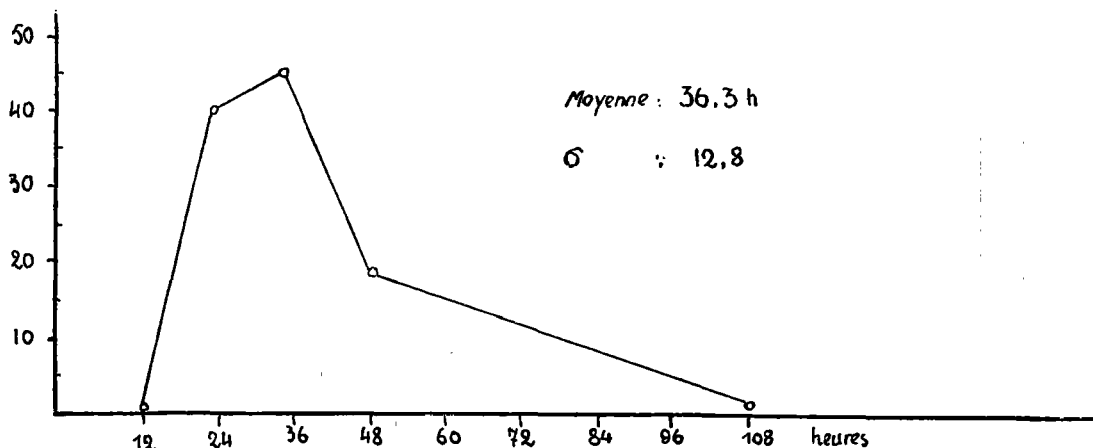
b) suspension de rate fraîche, en intra-veineuse : la période d'incubation est nettement allongée, elle s'étale sur 48-120 heures;

(1) et non déterminée, ce qui serait plus exact, par la multiplication du virus dans le sang démontrée par sous-inoculation (elle serait alors de quinze heures).

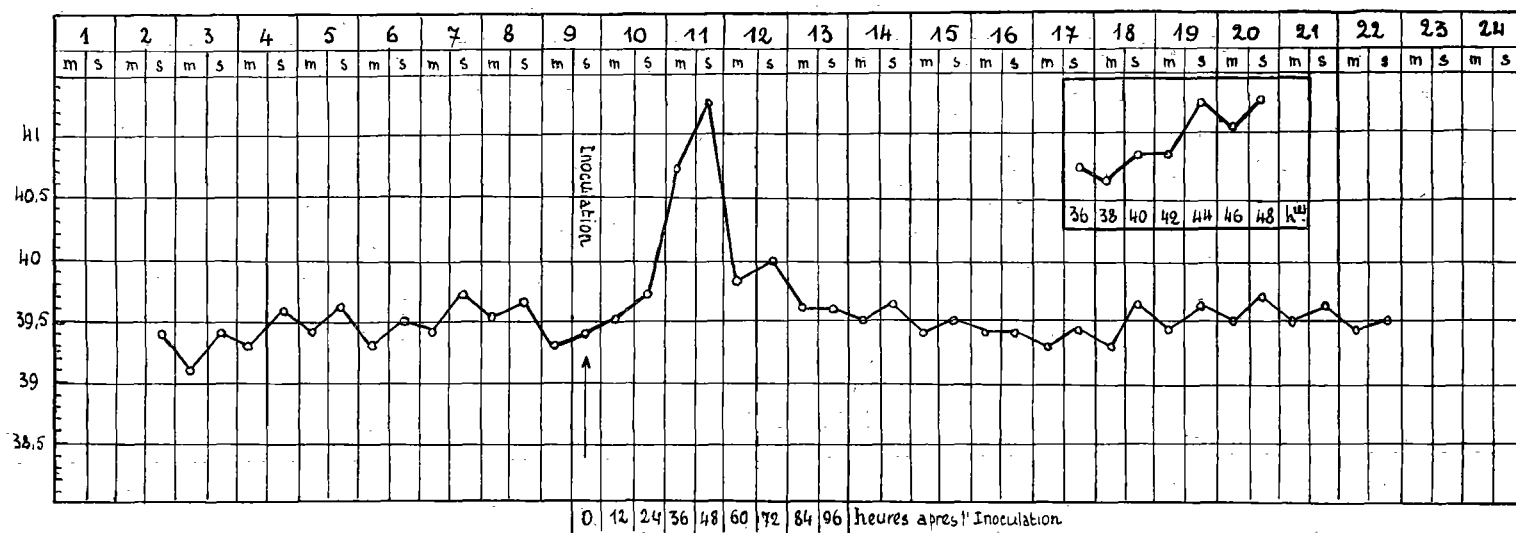
(2) Nous avons observé des mortalités du 7^e au 78^e jour.

Graphique 6 - Durées d'Incubation observées chez le Lapin après inoculation

intraveineuse de Virus bovipestique lapinisé.

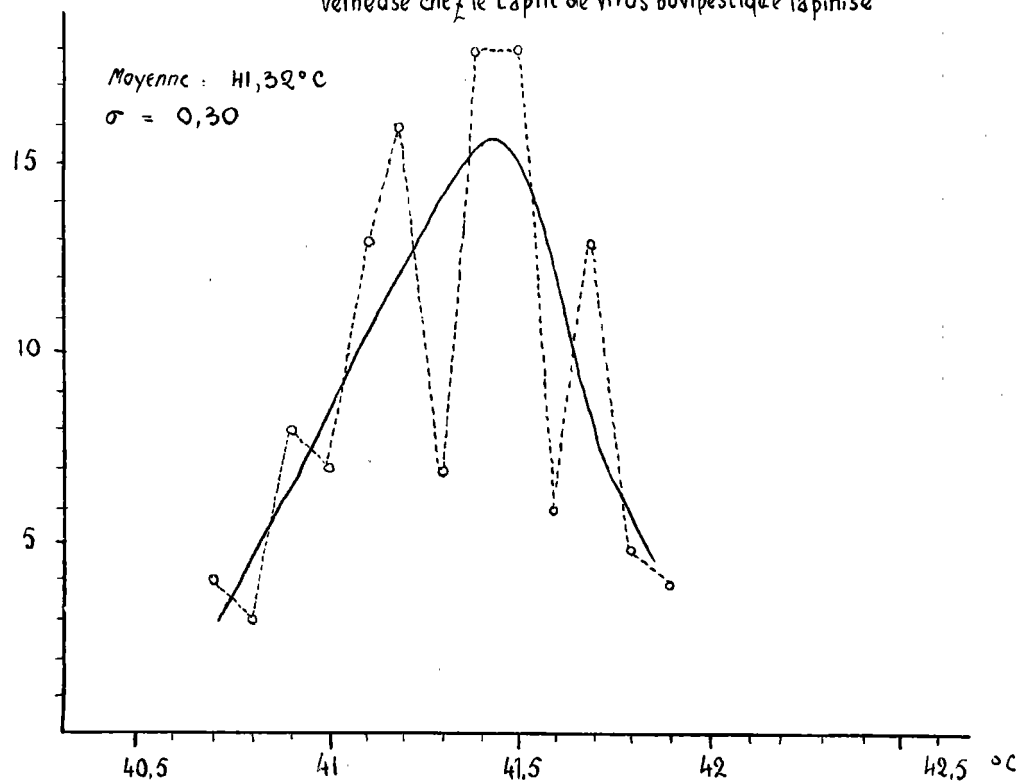


GRAPHIQUE 7 - Courbe de température d'un Lapin inoculé par voie intraveineuse avec le Virus Bovipestique Lapinisé

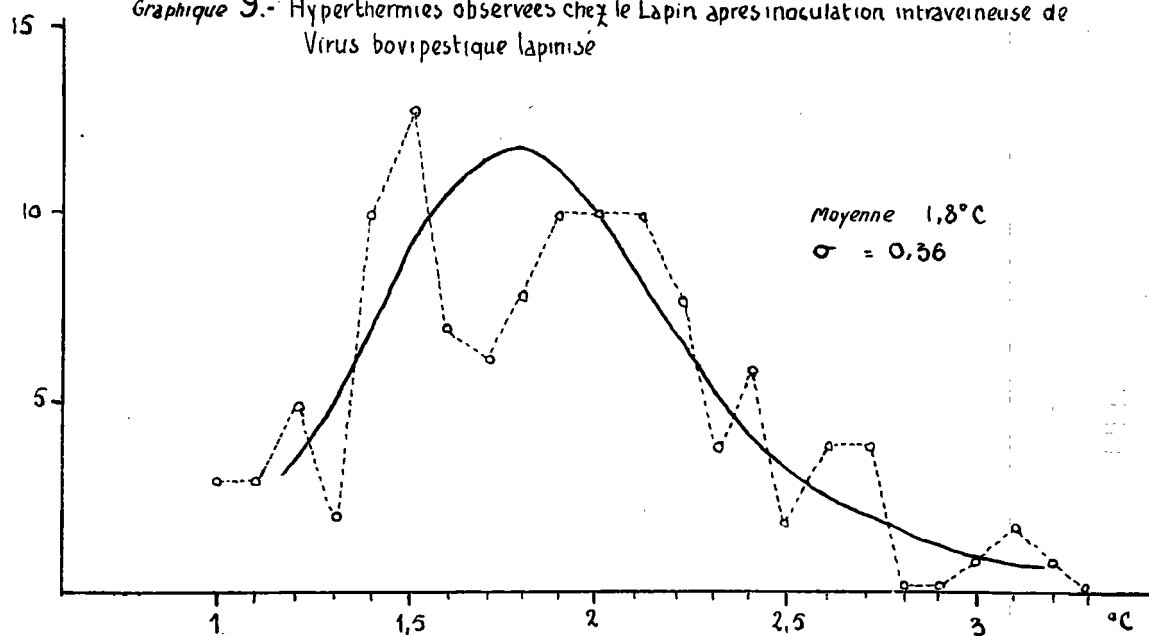


Le Graphique des températures relevées de la 36^{ème} à la 48^{ème} heure après l'inoculation a été développé dans l'angle supérieur droit du schéma ci-dessus.

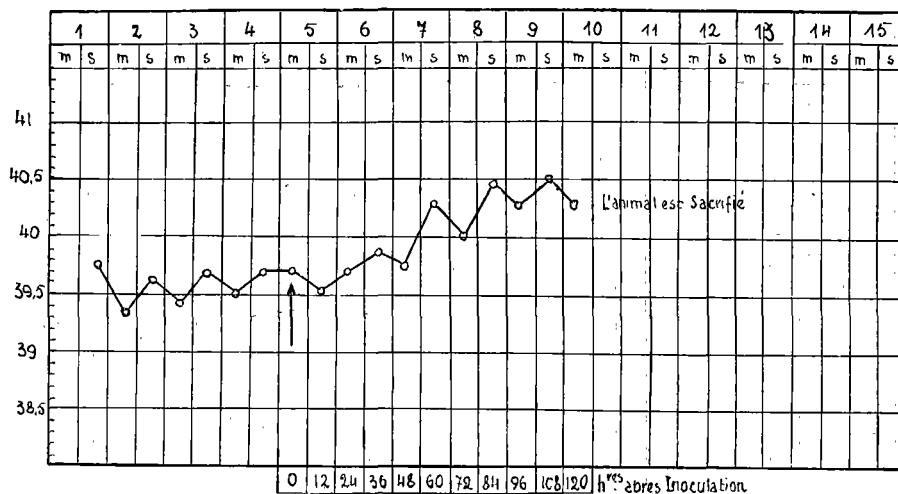
Graphique 8.- Temperatures maxima provoquées par l'inoculation intra-veineuse chez le Lapin de virus bovipestique lapinisé



Graphique 9.- Hyperthermies observées chez le Lapin après inoculation intraveineuse de Virus bovipestique lapinisé



GRAPHIQUE 10.- Réaction thermique atypique d'un Lapin inoculé par voie veineuse avec du Virus Lapinisé



c) suspension ganglionnaire fraîche, en intra-veineuse : la période d'incubation est pratiquement la même qu'avec le sang ;

d) suspension de pulpes d'organes (rate + ganglions) fraîches, en intradermique, même résultat qu'en c) ;

e) suspension de pulpes d'organes (rate + ganglions) desséchées sous froid, en intraveineuse : la période d'incubation est plus longue : de quarante-huit à soixante-quatre heures, mais il est probable que cet allongement est dû en partie à la diminution d'unités virulentes pour une même quantité de tissu par suite des pertes par lyophilisation.

Il peut en être de même pour les divers cas précités : la teneur en unités virulentes étant variable suivant qu'il s'agit de la rate, du sang, des ganglions..., il est possible que l'inoculation d'une même quantité de suspension virulente ne corresponde pas à une même quantité d'unités virulentes, ce qui expliquerait les discordances observées.

En réalité, les expériences devraient porter sur les divers matériels utilisés, chacun par voie endo-veineuse, sous-cutanée, intramusculaire, intrapéritonéale..., mais l'intérêt de cette spéculation paraît assez mince.

LÉSIONS.

Les lésions portent essentiellement sur les formations lymphoïdes des organes de la cavité abdominale : plaques de Peyer de l'intestin et de l'appendice ileo-cæcal, *sacculus rotundus* et appendice terminal du cæcum (*tonsilla cæcalis major*).

Les formations lymphoïdes sont visibles sur le lapin normal, mais nettement moins qu'à l'état pathologique où elles s'hypertrophient, prennent un « relief » caractéristique. Les plaques de Peyer, très visibles à l'état normal mais lisses, deviennent congestives et « chagrinées ». Les points lymphoïdes qui lui donnent cet aspect se détachent très distinctement. Le *sacculus rotundus* et l'appendice terminal du cæcum sont enflammés et offrent les mêmes caractéristiques que les plaques de Peyer.

Le ganglion mésentérique, granuleux, tourmenté, congestif, est succulent à la section. L'appendice ileo-cæcal est congestionné et le lacis sanguin superficiel tranche sur le fond blanc ivoir de l'organe.

La muqueuse stomacale est souvent congestionnée, avec exsudat, de même celle de l'intestin et du cæcum. La rate est hypertrophiée.

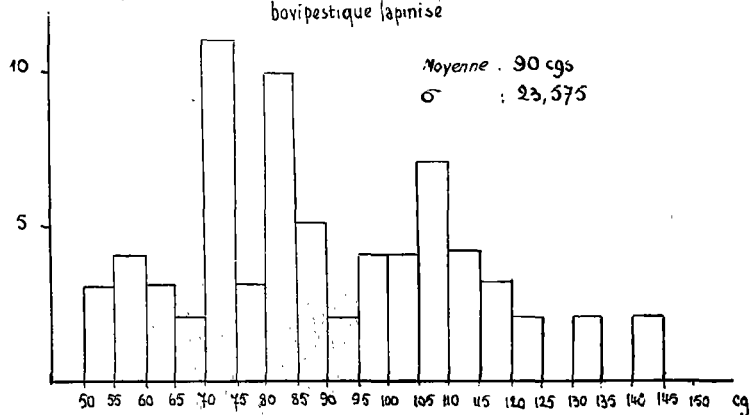
Nous avons fréquemment déterminé le poids des

organes virulents employés comme antigène : rate, ganglions. Il est variable dans la proportion de là 3.

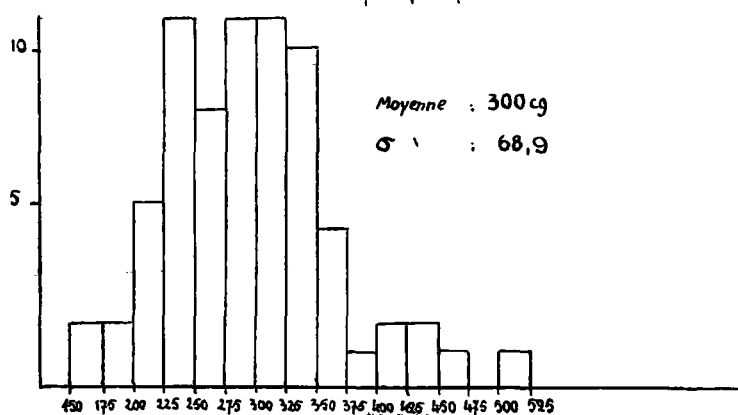
— Rate : 50 à 150 cg. Moyenne : 90 cg avec variation en + ou en — de 23 cg.

— Ganglion mésentérique : 150 à 525 cg.
Moyenne : 300 cg avec variation en + ou en — de 68 cg.

Graphique 11. — Poids des Rates prélevées chez des lapins inoculés avec le Virus bovipestique lapinisé



Graphique 12. — Poids des Ganglions mésentériques prélevés chez des lapins inoculés avec le Virus bovipestique lapinisé



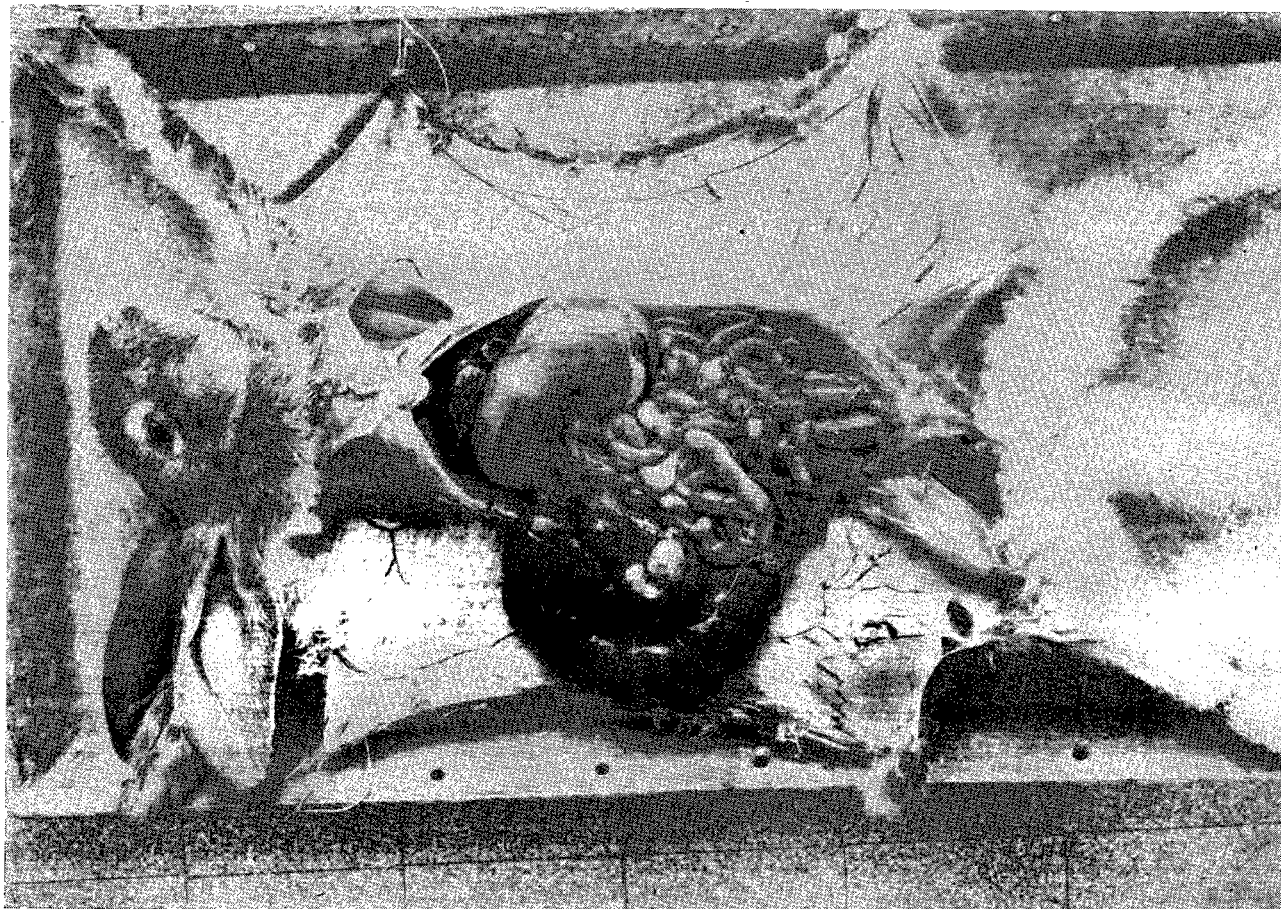


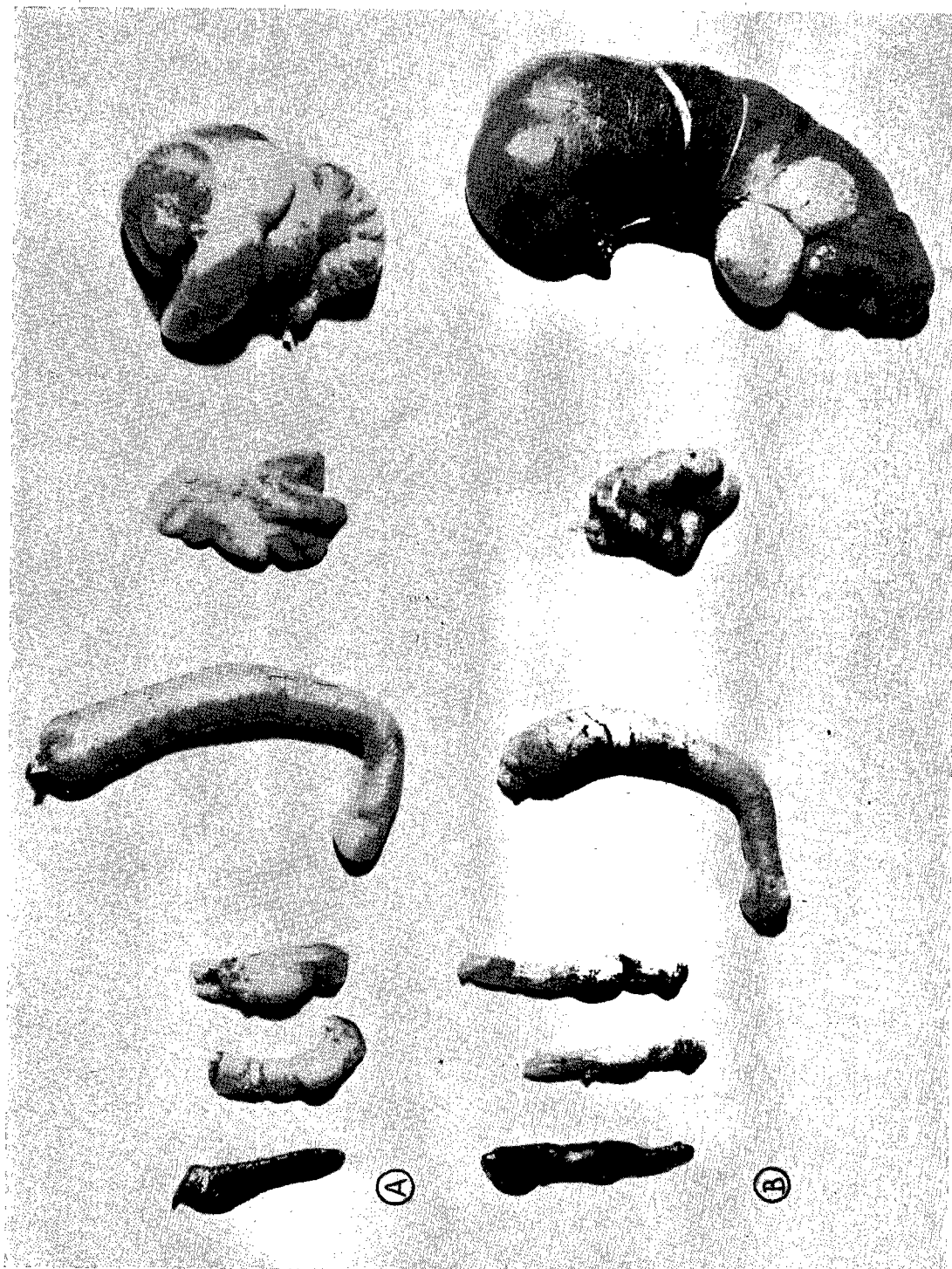
Fig. 1. — *Lapin infecté.*

(Cliché A. Cochet(eux).)



(Cliché A. Cocheteux).

Fig. 2. — Lésions des organes abdominaux : A) Saccus Rotundus — B) Appendice terminal du cæcum (Tonsilla cæcalis Major) — C) Appendice iléo-cæcal — D) Plaques de Peyer — E) Ganglion mésentérique.
Noter, outre l'hypertrophie des formations lymphoïdes, la congestion généralisée.



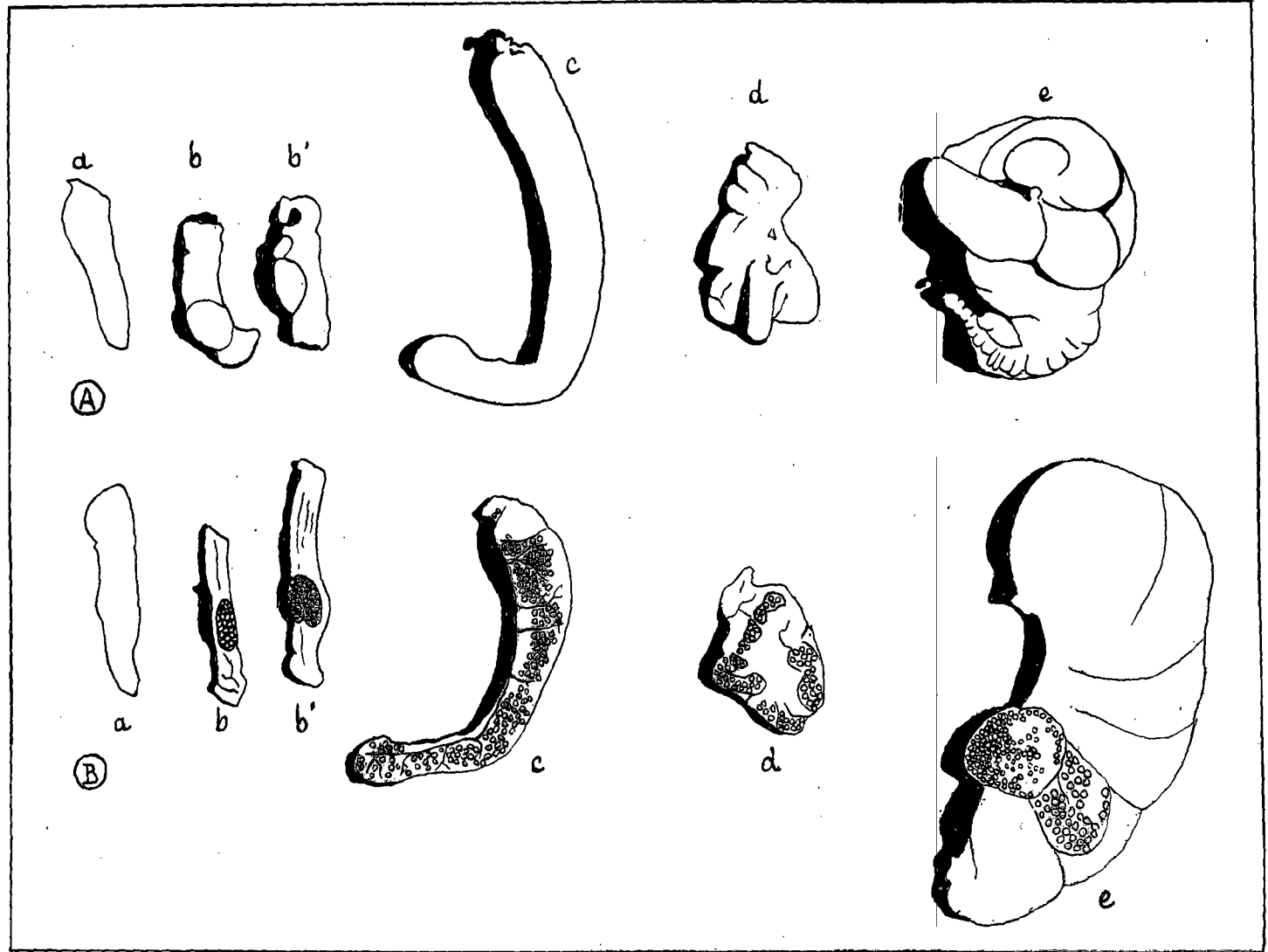


Fig. 3. — Comparaison entre les organes d'un lapin sain et infecté.

- A) Organes sujet sain :
- De gauche à droite :
- a) Rate;
 - b, b') Fragments d'intestin avec plaques de Peyer;
 - c) Appendice iléo-cæcal;
 - d) Ganglion mésentérique;
 - e) Portion de cæcum avec sacculus rotundus (à gauche) et appendice terminal du cæcum (à droite) (Tonsilla cæcalis major).
- B) Organes sujet infecté :
- De gauche à droite :
- a) Rate hypertrophiée;
 - b, b') Fragments d'intestin avec plaque de Peyer dont les formations lymphoïdes sont très visibles, congestion;
 - c) Appendice iléo-cæcal congestionné (noter le lacis veineux superficiel);
 - d) Ganglion mésentérique : Plaques lymphoïdes apparentes (vers le bas);
 - e) Cæcum avec sacculus rotundus et appendice terminal offrant le même aspect que ganglion et plaque de Peyer.

HISTO-PATHOLOGIE.

Les lésions intéressent essentiellement le système lymphopoiétique : l'analyse des divers tissus qui y participent est presque superposable.

Les commentaires suivants sont dûs à M. G. Thiery (1) :

a) Plaques de Peyer (intestin).

Elles sont constituées de follicules clos à centre nécrosé (nécrose de désintégration). Les noyaux des lymphoblastes sont tous en caryorrhexis; il est impossible de reconnaître les cellules réticulaires. La coloration élective de ces cellules par une méthode argentique permet de mettre en évidence les cellules réticulaires chez le témoin, mais non chez le lapin inoculé.

La zone d'émigration des lymphocytes est très légèrement œdématiée, mais le nombre de cellules migratrices est légèrement diminué.

La diminution du nombre des lymphocytes migrants indique que la nécrose débute par le centre germinatif; l'existence de ces cellules dans la muqueuse précise que le phénomène nécrotique est très brutal et rapide.

Sur les coupes minces, colorées dans de bonnes conditions, on note que les divers follicules lymphoïdes de la plaque de Peyer du lapin infecté ne sont pas au même stade évolutif lésionnel.

Certains présentent une nécrose totale : on ne peut plus distinguer le centre germinatif, aucune cellule vivante n'est perceptible; d'autres montrent une nécrose localisée exclusivement au centre germinatif, tandis que la zone périphérique est le siège d'une multiplication des cellules réticulaires, mobilisées pour la plupart, prenant l'aspect de macrophages. Ces derniers exercent même leur fonction phagocytaire au sein de la zone nécrosée. La périphérie de tels follicules est fortement infiltrée de lymphocytes en voie d'émigration. Entre ces deux images folliculaires, on observe tous les intermédiaires. Les techniques argentiques montrent nettement la différence d'aspect des cellules réticulaires : anastomosées en réseau chez le lapin normal, elles sont libres et plus ou moins sphériques dans les follicules les moins lésés chez l'animal infecté.

En dehors du follicule qui apparaît légèrement hyperplasié, on remarque chez l'animal infecté un œdème assez net du conjonctif périfolliculaire : les vaisseaux lymphatiques sont très dilatés, aussi bien ceux de la surface que ceux de la profondeur. Les

(1) Chef de travaux d'anatomie pathologique à l'École Vétérinaire d'Alfort qui a bien voulu également exécuter les microphotos. Nous l'en remercions vivement.

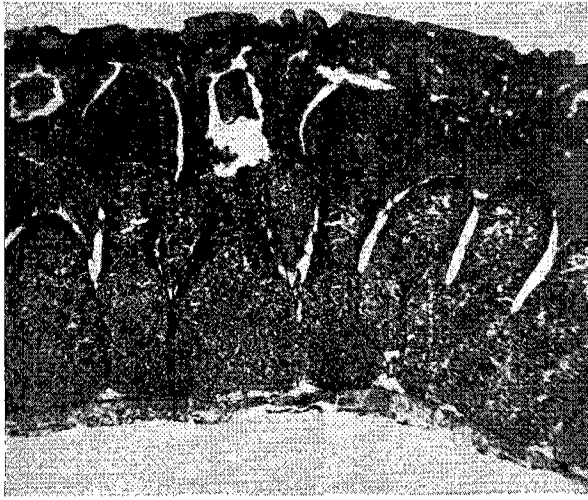


Fig. 1. — Plaque de Peyer de lapin normal. Noter l'uniformité d'aspect des follicules lymphoïdes et la densité des lymphocytes dans le chorion, se traduisant par une zone plus foncée. Les canaux lymphatiques entourant les follicules en région supérieure sont très visibles (coloration de Mann $\times 25$).

Fig. 2. — Plaque de Peyer de lapin infecté de virus pestique lapinisé sacrifié le 3^e jour de l'infection. On remarque, par rapport à l'image précédente, une nette hypertrophie des follicules dues à un épaississement de la zone périfolliculaire. Les follicules sont tantôt totalement névrosés (follicule du centre) tantôt presque deshabités dans la zone germinative (follicule adjacent à droite). Les lymphocytes diapédésés et accumulés entre les villosités de l'intestin sont complètement nécrosés également (en haut à droite). Les canaux lymphatiques supra-musculaires sont dilatés, les autres sont encombrés de lymphocytes et de cellules. La différence d'aspect des villosités semble due à la différence du siège du prélèvement, néanmoins leur chorion est légèrement œdémateux (coloration de Mann $\times 25$).



Fig. 3. — Mêmes préparations. Vue à un plus fort grossissement des follicules lymphoïdes du centre de la préparation. On observe très bien la partie nécrosée du follicule central et le reste de nécrose du follicule adjacent à droite. On peut noter l'émigration lymphocytaire marquée à la périphérie du follicule de droite à centre déshabité, phénomène plus réduit pour celui de gauche, et nul pour celui du centre (coloration de Mann $\times 70$).

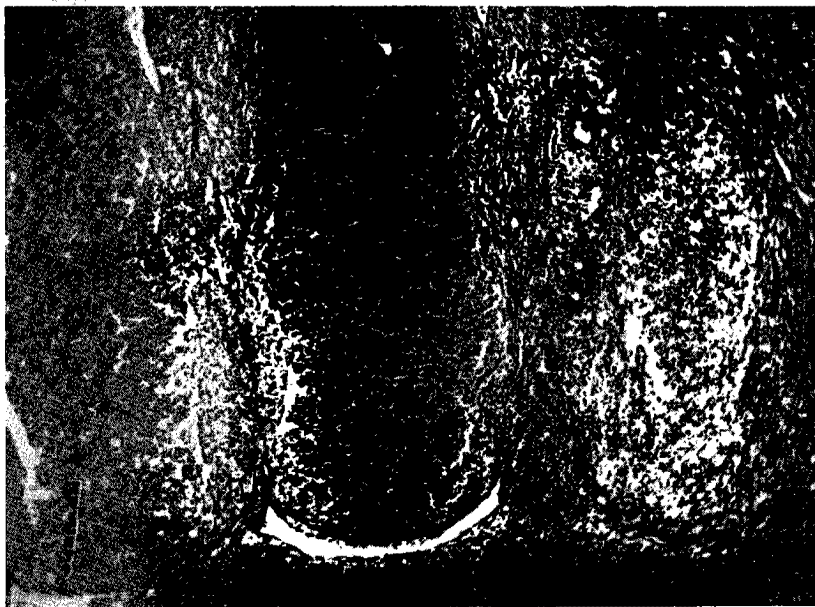


Fig. 4. — Mêmes préparations. L'infiltration lymphocytaire de la périphérie des follicules les moins lésés correspond à une diapédèse active des lymphocytes à travers l'épithélium intestinal situé en haut de la figure. On peut remarquer l'encombrement des canaux lymphatiques par des lymphocytes (au milieu de l'image) (coloration de Mann $\times 70$).

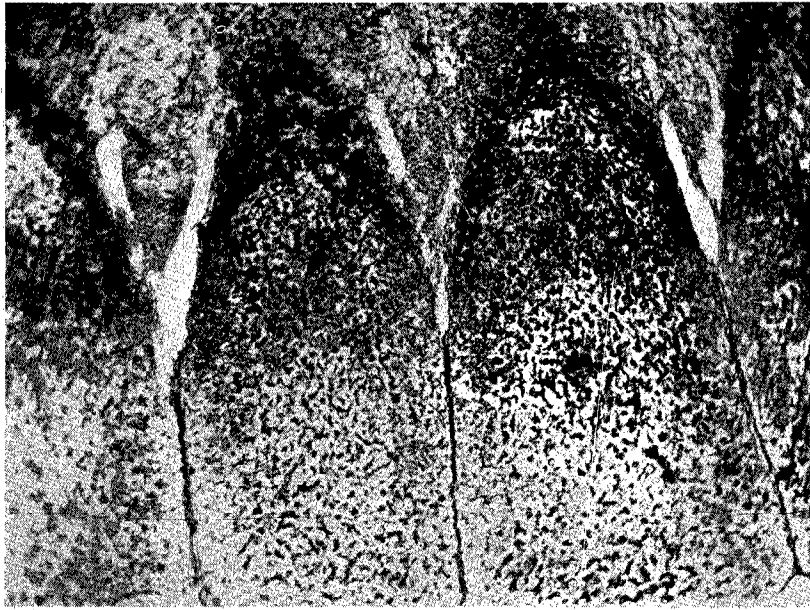


Fig. 5. — *Plaqué de Peyer de lapin normal. Remarquer l'aspect de réseau que forment les cellules réticulaires des follicules lymphoïdes. Elles sont nombreuses et nettement anastomosées (Technique argentique de G. Thiery $\times 70$).*

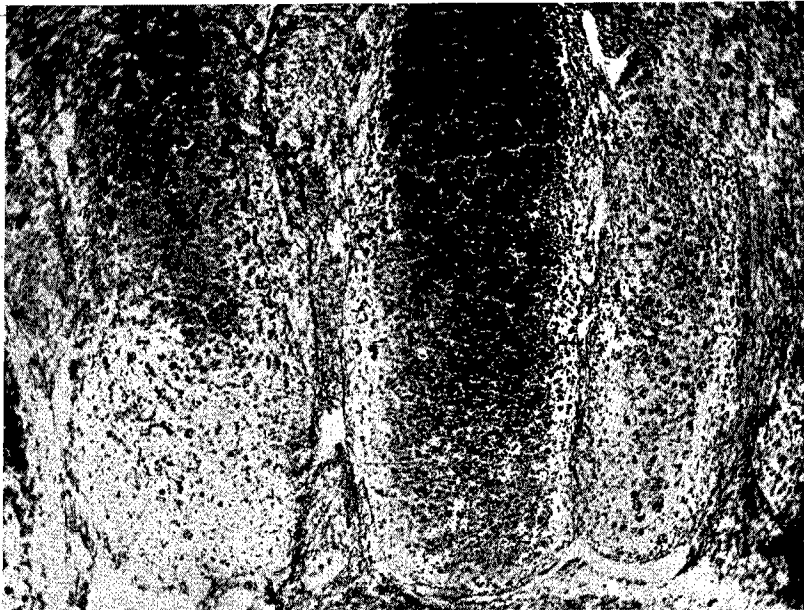


Fig. 6. — *Même préparation que la figure n° 2. On ne trouve plus l'aspect réticulé des cellules réticulaires qui ont échappé à la nécrose. Elles se sont transformées en macrophages de forme arrondie comme on peut les voir dans les deux follicules latéraux. Les cellules sont prisonnières du foyer de nécrose dans le follicule situé au centre de la figure (Technique argentique de G. Thiery $\times 70$).*

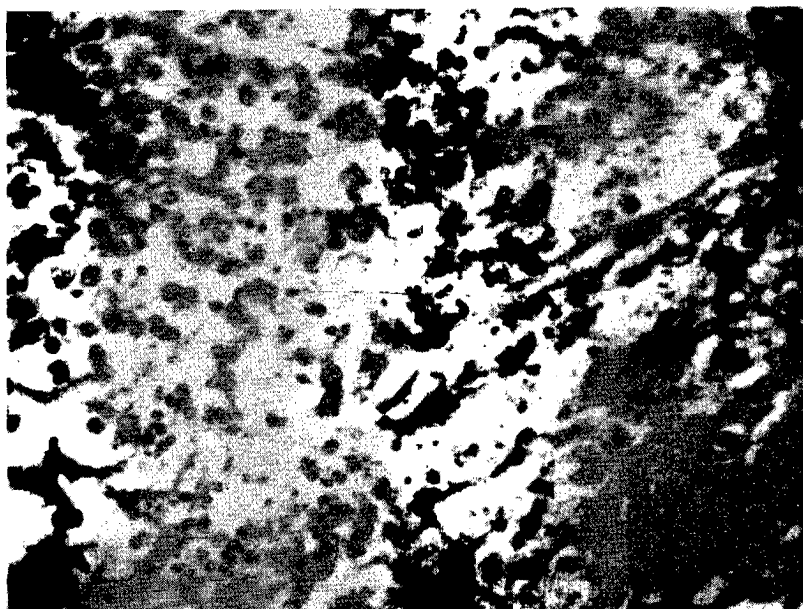


Fig. 7. — Appendice de lapin infecté de virus pestique lapinisé. Un très fort grossissement permet de constater dans la partie centrale de certains follicules (en haut à gauche) une hyperplasie des cellules réticulaires caractérisées par un noyau arrondi normal. Il persiste encore dans le follicule des débris de noyaux de lymphoblastes et lymphocytes traduits ici sous forme de petites taches foncées (hématoxyline-éosine $\times 450$).

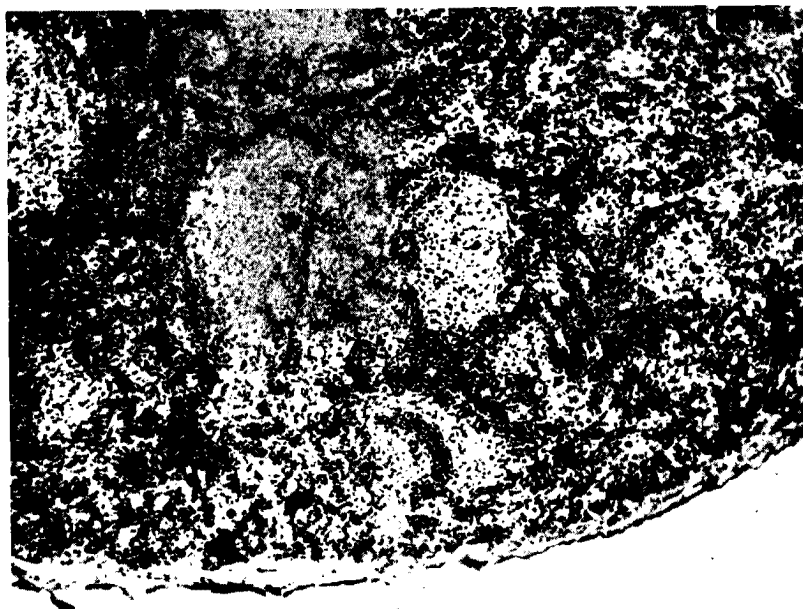


Fig. 8. — Rate de lapin infecté par le virus pestique. La congestion des cordons de Billroth se traduit ici par des trainées noires (Les hématies apparaissent noires) tandis que les corpuscules de Malpighi se montrent déshabités très clairs (Coloration fuchsine acide picrate de vert de méthyle $\times 100$).

lymphatiques renferment quelques polynucléaires pseudoéosinophiles et quelques lymphocytes. Les cellules endothéliales qui les limitent sont à peine turgescentes. Parfois, l'œdème entraîne une stase veineuse de compression. Le chorion est, en certains points, infiltré de polynucléaires pseudoéosinophiles. Au niveau de la surface de la muqueuse, les villosités sont séparées par des cavités remplies de cellules nécrosées; les cellules qui les bordent sont généralement atteintes de dégénérescence mucoïde.

Il semble donc que le virus agisse essentiellement sur les cellules de la lignée lymphopoïétique, qu'elles soient dans les follicules ou libres dans la lumière de l'intestin. Cette notion est très importante à souligner du point de vue de la biologie de cet ultra-virus. La réaction des cellules réticulaires est simplement la conséquence de la nécrose.

b) *Sacculus rotundus*.

Œdème assez net du chorion de la muqueuse. Les follicules clos sont en voie de nécrose; certains se présentent parsemés de petits débris nucléaires signifiant la caryorrhexis des lymphoblastes et lymphocytes, d'autres n'en referment plus qu'un peu dans la zone germinative de Flemming, seul apparaît un réseau de cellules réticulaires légèrement altérées. De nombreux lymphocytes sont frappés de nécrose avec pycnose nucléaire ou caryorrhexis au cours de la diapédèse à travers l'épithélium intestinal. On retrouve quelques lymphocytes et polynucléaires dégénérés dans la lumière intestinale.

c) Appendice terminal du cæcum (*tonsilla cæcalis major*).

L'image est identique à celle observée au niveau du *sacculus rotundus*.

d) Intestin.

Aspect identique au précédent.

e) Appendice ileo-cæcal.

On remarque toujours une nécrose des follicules lymphoïdes, mais à côté des follicules nécrosés, il existe des follicules lymphoïdes dont les débris nucléaires réticulaires de la zone germinative se sont multipliés. Ils sont parfaitement vivants et possèdent de beaux noyaux. Dans les autres follicules, les cellules réticulaires ont pris l'aspect de macrophages rappelant la lésion observée au niveau des plaques de Peyer.

f) Ganglion mésentérique.

Réticulose assez marquée avec déshabitation par les cellules de la lignée lymphoïde, bien visible en

dehors des follicules lymphoïdes. Dans ces derniers, on retrouve les images de nécrose observée au niveau de l'intestin et les figures d'hyperplasie dégénérative des cellules réticulaires notées dans la paroi de l'appendice.

g) Rate.

Sur les coupes de rate, on note deux particularités, ce sont d'une part la déshabitation de l'organe par la presque totalité des cellules mobiles, d'autre part une congestion accusée. La déshabitation intéresse essentiellement les cordons de Billroth et les sinus sanguins où l'on ne remarque plus que quelques myélocytes et myéloblastes parfois en voie de dégénérescence; par contre les cellules réticulaires sont bien visibles. Au niveau des corpuscules de Malpighi, il n'y a presque plus de lymphocytes et lymphoblastes, aussi les cellules réticulaires se sont très légèrement hypertrophiées et hyperplasiées. La congestion intéresse essentiellement les cordons de Billroth bourrés à l'excès de globules rouges tandis que les sinus sanguins le sont beaucoup moins. Les artérioles des corpuscules de Malpighi ne sont guère remplies d'hématies ce qui montre qu'il ne s'agit pas d'une banale congestion passive; d'ailleurs la sidéropexie est très modérée. Un fort grossissement permet d'observer, comme chez le veau, dans les cellules réticulaires de la périphérie des corpuscules de Malpighi et dans quelques cellules réticulaires de la pulpe rouge quelques inclusions cellulaires acidophiles intracytoplasmiques. Mais alors que chez le veau elles sont nombreuses, de forme variable, faciles à identifier, il n'en est pas de même ici puisqu'elles sont rondes et qu'il existe des granulations assez semblables dans les myélocytes pseudoéosinophiles surtout lorsqu'ils sont en voie de dégénérescence.

Conclusion. — Les lésions majeures intéressent la lignée des cellules lymphoïdes et se traduisent par la nécrose des follicules lymphoïdes de tout l'intestin, du ganglion mésentérique, et même des lymphocytes du sang circulant dans les petits vaisseaux. Il existe, en outre, des images de régénération se manifestant par l'hyperplasie du réticulum de certains follicules.

LE VIRUS.

Le virus étant lymphocytotrope, les organes doivent être quantitativement d'autant plus virulents que leur richesse en tissu lymphoïde est plus grande. Ceci nous amène à déterminer la valeur respective des organes à formation lymphoïde par la connaissance de la dose minima infectante de virus (D.M.I.).

Localisation du virus :

Le virus est localisé dans le *sang* (sur les leucocytes d'après Nakamura), les *ganglions*, la *rate*, qui ont fait l'objet de recherches antérieures, mais encore à des degrés divers, le *poumon*, l'*appendice iléo-cæcal*, le *foie*.

— Le *sang* du lapin contient en moyenne 8.900 globules blancs par mm³ dont 63 % de lymphocytes (H.-H. Dukes). Il constitue donc un bon support pour le virus.

— Les *ganglions*, riches en tissu lymphoïde, sont également les organes d'élection du virus.

— La *rate* doit son pouvoir antigène à la pulpe rouge d'une part, et aux cordons lymphoïdes de la pulpe blanche d'autre part. Sa valeur est bien inférieure à celle du sang (voir plus loin : « Dose minima infectante »).

— Le *poumon* présente un « vaste dispositif lymphoïde », mais à faible densité; aussi, si le virus y est décelé, c'est à des taux bien moindres que dans les tissus précédents.

— Le *foie*, par contre, malgré les cellules de Küpffer, est un support de faible valeur. Sa virulence n'est peut-être même due qu'au sang qui l'irrigue.

— Nos recherches sur la virulence de la *muqueuse stomacale*, de l'*appendice iléo-cæcal*..., sont peu concluantes et seraient à reprendre.

— La *moelle osseuse*, abondamment pourvue de cellules blanches, et reconnue comme antigénique par P. Bergeon (1952) chez les veaux expérimentalement infectés de peste bovine, n'a manifesté, au cours de nos expériences, qu'une virulence irrégulière. Cette conclusion n'est pas définitive.

Dose minima infectante chez le lapin (1).

Voici les résultats obtenus (cf. Tableau 1, pp. 148-151).

A) Matériel frais.

1° Sang :

D.M.I. = 0,001 cm³ ou 1 cm³ = 10.000 D.M.I.

(1) Pour éviter toute interprétation erronée, voici la méthode que nous utilisons pour la détermination de la D.M.I. :

L'organe ou tissu à tester est pesé. Il est ensuite broyé dans un volume connu de sérum physiologique. Ce volume est ajusté de manière à obtenir des dilutions contenant 1/10 ou 1/100 mg de tissu frais pour 1 cm³. Ces dilutions servent à l'inoculation du lapin, les plus concentrées étant utilisées pour les organes les moins riches en virus.

Pour le sang, la dilution est opérée directement dans du sérum physiologique.

Nous avons convenu que la D.M.I. est la plus petite

2° Rate (2) :

D.M.I. = 0,001 g ou 1 g = 10.000 D.M.I.

3° Ganglions :

a) mésentérique :

D.M.I. = 0,000004 g ou 1 g = 250.000 D.M.I.

b) poplitée :

D.M.I. = 0,00001 g ou 1 g = 100.000 D.M.I. (3).

4° Foie :

D.M.I. = 0,004 g ou 1 g = 250 D.M.I.

5° Parenchyme pulmonaire :

D.M.I. = 0,001 g ou 1 g = 1.000 D.M.I.

6° Suspension du mélange rate-ganglions-sang (4) :

D.M.I. = 0,00001 g ou 1 g = 100.000 D.M.I.

B) Matériel desséché (lyophilisé).

La D.M.I. calculée sur le mélange sang-rate-ganglions, est, d'après nos premières expériences, de : 0,00001 g, ou 1 g sec = 100.000 D.M.I. (correspondant à 25.000 doses pour 1 g de matériel frais.

Les renseignements concernant les D.M.I. sont condensés dans le tableau I ci-après.

dose provoquant l'infection classique sur au moins 50 % des animaux.

D'autre part, la D.M.I. avec matériel frais est rapportée au gramme de tissu frais, et la D.M.I. avec matériel desséché est rapportée au gramme de matériel sec en admettant, conformément à nos mesures d'humidité, que 1 g de matériel sec provient de la dessiccation de 4 g de tissu frais.

Il est, en effet, très difficile de déterminer exactement un poids très faible d'un produit sec très hygroscopique.

Flösdorf estime que l'exposition, même brève, d'un produit lyophilisé en atmosphère ambiante, suffit pour augmenter sensiblement l'humidité du produit desséché (par exemple, un produit contenant 1 à 2 % d'humidité reprend 1 % après trente secondes).

(2) Nous avons indiqué (*supra*) que la pulpe splénique avait une valeur antigénique bien moindre que celle du sang ou du moins contenait un nombre moindre d'unités virulentes. Le fait que 1 cm³ de sang renferme 10.000 D.M.I., au même titre que 1 g de rate, ne modifie pas cette affirmation. En effet, si l'on rapporte ces unités virulentes au poids sec, on note que 1 g de rate fraîche donne environ 0,25 g de pulpe desséchée, et 1 cm³ de sang quelques milligrammes. Les quelques milligrammes de sang desséché supportent donc autant d'unités virulentes que les 25 cg de pulpe splénique.

(3) Cette différence de virulence entre le ganglion mésentérique et le poplitée est à confirmer par de nouveaux essais.

(4) Utilisé habituellement pour la préparation du vaccin.

TABLEAU I. — Dose minima

MATÉRIEL	LAPIN numéro	DATE	QUANTITÉ inoculée frais	TEMPÉRATURE avant inoculation	TEMPS d'incubation	TEMPÉRATURE maxima
SANG	73	11-7-53	1/10 cm ³	39°2	48 heures	40°9
	74	11-7-53	1/10 —	39°5	48 —	40°9
	75	11-7-53	1/100 —	38°9	48 —	40°7
	76	11-7-53	1/100 —	38°7	48 —	40°2
	77	11-7-53	1/1.000 —	39°2	48 —	40°4
	78	11-7-53	1/1.000 —	38°8	60 —	41°
	210	30-9-53	1/10.000 —	39°	60 —	40°7
	211	30-9-53	1/10.000 —	39°4	60 —	41°
RATE	32	15-6-53	8 mg	38°7	36 heures	40°5
	33	15-6-53	8 —	38°9	24 —	40°7
	34	15-6-53	0,8 —	38°6	36 —	40°7
	35	15-6-53	0,8 —	38°5	24 —	41°1
	36	15-6-53	0,4 —	38°5	36 —	40°9
	37	15-6-53	0,4 —	38°9	»	39°2
	212	30-9-53	0,1 —	39°3	36 heures	41°
GANGLION MÉSENTÉRIQUE	44	20-6-53	4 mg	38°7	36 heures	40°8
	45	20-6-53	4 —	39°1	24 —	40°5
	46	20-6-53	0,4 —	38°9	24 —	41°1
	47	20-6-53	0,4 —	39°2	24 —	40°7
	48	20-6-53	0,04 —	38°7	48 —	40°7
	49	20-6-53	0,04 —	38°9	48 —	40°5
	56	26-6-53	0,05 —	38°5	24 —	41°
	57	26-6-53	0,05 —	38°8	48 —	40°4
	58	26-6-53	0,05 —	38°7	36 —	40°6
	59	26-6-53	0,05 —	38°5	48 —	41°1
	60	26-6-53	0,004 —	38°7	36 —	40°3
	61	26-6-53	0,004 —	38°9	36 —	40°5
	218	30-9-53	0,001 —	39°5	»	»
	219	30-9-53	0,001 —	39°5	»	»
G. POPLITÉ	101	6-8-53	1 mg	39°5	24 heures	41°4
	102	6-8-53	1 —	39°2	36 —	41°
	103	6-8-53	0,1 —	39°2	36 —	41°4
	104	6-8-53	0,1 —	39°5	36 —	41°1
	105	6-8-53	0,01 —	39°	36 —	41°2
	106	6-8-53	0,01 —	38°7	24 —	39°9
	107	6-8-53	0,001 —	38°7	36 —	39°9
	108	6-8-53	0,001 —	38°7	24 —	40°

infectante par organe (Matériel frais)

HEURE température maxima	LÉSIONS	RÉSULTATS	OBSERVATIONS
60 heures	Typiques	+	»
60 —	id.	+	»
62 —	?	+	Laissé en observation, mort le 19-7-?, autopsie non pratiquée.
62 —	?	+	id. 18-7-?, id.
66 —	?	±	id. 18-7-?, id.
64 —	?	+	id. 31-7-?, id.
76 —	Typiques	+	»
76 —	id.	+	»
			D.M.I. sang $\leq 0,0001 \text{ cm}^3$
74 heures	Typiques	+	»
72 —	id.	+	»
67 —	id.	+	»
67 —	id.	+	? Autopsie non pratiquée.
67 —	id.	+	»
—	?	0	»
72 heures	Typiques	+	»
			D.M.I. rate lapin = 0,1 mg.
66 heures	Typiques	+	»
48 —	id.	+	»
64 —	id.	+	»
60 —	id.	+	»
78 —	id.	+	»
64 —	id.	+	»
62 —	id.	+	»
60 —	id.	+	Laissé en observation, mort de peste le 15-7.
60 —	id.	+	id. 15-7.
60 —	id.	+	»
78 —	id.	+	Laissé en observation, mort de peste le 3-8.
48 —	id.	+	id. 11-9.
»	»	0	»
»	»	0	»
			D.M.I. ganglions mésentériques $\leq 0,004 \text{ mg.}$
60 heures	Typiques	+	»
66 —	id.	+	»
64 —	id.	+	»
66 —	id.	+	»
86 —	id.	+	»
36 —	»	?	Laissé en observation.
96 —	»	?	id.
48 —	»	?	id.
			D.M.I. POPLITÉ = 1/100 mg.

TABLEAU I. — Dose minima infectante

MATÉRIEL	LAPIN numéro	DATE	QUANTITÉ inoculée frais	TEMPÉRATURE avant inoculation	TEMPS d'incubation	TEMPÉRATURE maxima
FOIE	38	19-6-53	0,4 mg	38°8	»	39°8
	39	19-6-53	0,4 —	39°2	»	39°5
	40	19-6-53	4 —	39°7	60 heures	40°7
	41	19-6-53	4 —	38°5	24 —	39°8
	42	19-6-53	4 cg	39°1	30 —	40°7
	43	19-6-53	4 —	39°2	48 —	40°8
	163	7-9-53	5 mg	38°7	60 —	40°6
	164	7-9-53	5 —	39°1	»	39°7
	165	7-9-53	1 —	39°1	»	39°6
	166	7-9-53	1 —	38°9	»	40°1
POUMON	79	11-7-53	1 mg	38°7	48 heures	40°7
	80	11-7-53	1 —	38°7	Pas de réac	
	81	11-7-53	1/10 —	39°2	»	39°8
	82	11-7-53	0,1 —	38°7	Pas de réac	
	83	11-7-53	0,01 —	38°8	»	39°4
	84	11-7-53	0,01 —	38°9	Pas de réac	
APP. ILEO-CÆCAL	117	18-8-53	1 cg	38°2	36 heures	40°1
	118	18-8-53	1 —	39°7	»	40°
	119	18-8-53	1 mg	38°9	48 heures	40°5
	120	18-8-53	1 —	39°2	36 —	40°3
	121	18-8-53	0,1 —	39°2	24 —	40°3
	122	18-8-53	0,1 —	39°1	72 —	40°9
APP. ILEO-CÆCAL (+ Pénicilline 200.000 U.I. au frigidaire pendant vingt-quatre heures)	109	11-8-53	1 mg	40°	Pas de réac	
	110	11-8-53	1 —	39°8	»	40°2
	111	11-8-33	0,1 —	39°2	»	40°
	112	11-8-53	0,1 —	39°5	»	39°7
	113	11-8-53	0,01 —	38°5	»	40°
	114	11-8-53	0,01 —	39°2	»	40°5
MOELLE OSSEUSE	89	11-7-53	0,001 mg	38°7	»	39°4
	90	11-7-53	0,001 —	38°7	»	39°5
	95	11-7-53	0,01 —	39°2	»	40°2
	96	11-7-53	0,01 —	39°5	Pas de réac	
	93	11-7-53	0,1 —	39°2	»	39°9
	94	11-7-53	0,1 —	39°7	»	39°8
	145	1-9-53	1 cg	39°4	48 heures	41°
	146	1-9-53	1 —	39°2	Pas de réac	
	147	1-9-53	1 mg	39°2	»	39°7
	148	1-9-53	1 —	38°6	84 heures	40°4
	149	1-9-53	1/10 —	38°5	»	39°5
	150	1-9-53	0,1 —	38°3	48 heures	40°9

par organe (matériel frais) (Suite)

HEURE température maxima	LÉSIONS	RÉSULTATS	OBSERVATIONS
»	»	0	»
»	»	0	»
66 heures	Typiques	+	»
60 —	»	0	»
68 —	Typiques	+	»
66 —	id.	+	»
66 —	id.	+	»
»	»	0	»
»	»	0	»
66 —	»	0	»
D.M.I. FOIE = 4 à 5 mg.			
84 heures	Typiques	+	Laissé en observation, mort de peste le 18-7.
tion thermique	»	0	id. 2-8.
»	»	0	id. 5-8.
tion thermique	»	0	id. 5-8.
»	»	0	id. 5-8.
tion thermique	»	0	»
D.M.I. POUMON = 1 mg.			
48 heures	Congestion de tous les organes	Douteux	A cause lésions équivoques.
»	»	0	Laissé en observation, mort le 27-7.
84 —	id.	+	id. , a survécu.
48 —	id.	Douteux	A cause lésions équivoques.
60 —	id.	id.	id.
156 —	Typiques	id.	id.
D.M.I. A. ILEO-CÆCAL = 1/10 mg ?			
tion thermique	»	0	Expérimentation à refaire.
»	»	0	id.
52 —	»	0	id.
»	»	0	id.
66 —	»	?	id.
66 —	Non typiques	?	id.
»	»	0	»
»	»	0	»
»	»	0	»
tion thermique	»	0	»
»	»	0	»
»	»	0	»
62 heures	Typiques	+	»
tion thermique	»	0	Courbe thermique très irrégulière.
»	»	0	Mort le 12-9.
144 —	»	0 ?	»
»	»	0	»
70 —	Typiques	+	MOELLE OSSEUSE = D.M.I. indéterminée.

TABLEAU II**Dose minima infectante comparée (Matériel frais)**

MATÉRIEL	CHENG (1949)	BROTHERSTON (1951)	NAKAMURA (1953)	LABORATOIRE DAKAR (1953)
Sang (1).....	1.000 - 10.000	»	»	10.000
Rate (2).....	»	»	»	10.000
Ganglions (2).....	100.000 - 1.000.000	»	1.000.000 - 10.000.000	250 000
Mélange sang-rate-ganglions (2).....	»	1.000.000	»	100.000
(1) Le nombre de D.M.I. est exprimé pour 1 cm ³ . (2) Le nombre de D.M.I. est exprimé pour 1 g.				

TABLEAU III**Dose minima infectante comparée (Matériel lyophilisé)**

MATÉRIEL	CHENG (1949)	BROTHERSTON (1951)	NAKAMURA (1953)	LABORATOIRE DAKAR (1953)
Mélange sang-rate-ganglions (1).....	100.000	100.000	?	100.000
(1) Le nombre de D.M.I. est exprimé pour 1 g sec.				

TABLEAU IV**Dose minima infectante comparée (Matériel frais et desséché)**

MÉLANGE SANG-RATE-GANGLIONS	BROTHERSTON (1951)	LABORATOIRE DAKAR (1953)
Frais.....	1.000.000	100.000
Desséché.....	100.000	100.000

Comparons les résultats concernant la D.M.I. obtenus par J. Nakamura, S.-C. Cheng, J. Brotherston, et nous-mêmes.

De la lecture de ce tableau, il ressort que les pertes de virulence au gramme par lyophilisation sont loin d'être négligeables.

Si l'on admet que 1 g de produit sec est fourni par 4 g de produit frais, il est facile de voir que :

a) J. Brotherston, en partant de 1.000.000 D.M.I. au gramme de produit frais perd 97,5 % en sec (1 g de produit sec étant fourni par 4 g de produit frais, l'opération débutant avec 4.000.000 D.M.I. en frais se termine à 100.000 D.M.I. en sec, soit une perte de 3.900.000 D.M.I.) ;

b) Nous-mêmes, en partant de 100.000 D.M.I. au gramme frais, nous avons une perte de 75 % (en effet, 1 g de matériel sec = 100.000 D.M.I. provient de 400.000 D.M.I. en frais, soit une perte de 300.000 D.M.I.).

Devant ces pertes importantes par lyophilisation, nous avons estimé que des recherches plus approfondies étaient nécessaires pour améliorer la technique, sinon il apparaissait très difficile d'obtenir par lapin le nombre de doses vaccinales « en sec » théoriquement avancées par divers auteurs, et le procédé de vaccination par virus lapinisé perdait ainsi de sa valeur.

Nous verrons plus loin, dans le sous-chapitre « Détermination des pertes par lyophilisation », les résultats obtenus.

CONSERVATION DU VIRUS.

La durée de conservation du virus, en faisant varier les modes de conservation et les techniques, exigerait un nombre considérable d'expériences et d'animaux.

Il est en tout cas certain que le virus lapinisé est fragile, nettement plus que le virus bovine pestique et le virus caprinisé. Il ne doit pas être laissé à la température ambiante, et le froid est un agent essentiel pour le maintien de sa virulence.

Nos essais sont limités, mais confirment les observations des autres auteurs.

Dans un réfrigérateur à + 4° C, le sang virulent reste pleinement infectant pendant au moins quarante-huit heures.

Le virus congelé et desséché sous vide, mais maintenu en atmosphère *humide* et sous froid, reste virulent pendant au moins un mois, mais la quantité minima nécessaire pour infecter un lapin est alors dix fois plus forte.

Le virus lyophilisé et conservé sous vide à - 20° C garde ses propriétés infectantes pendant six mois minimum. Inoculé au lapin au bout de ce laps de temps, on observe généralement un allongement de

la période d'incubation mais, au deuxième passage, le virus reprend son comportement normal.

Selon certains auteurs, la durée de conservation, malgré l'intervention du froid, influe sur la valeur du virus. Par exemple, Mettam (1945, cité par Mornet) signale que du virus caprinisé, desséché, maintenu à - 10° C pendant onze mois et demi montre une certaine atténuation se manifestant par une période d'incubation prolongée, un allongement de la réaction et une fièvre modérée.

Ces résultats, fragmentaires et insuffisants reconnaissons-le, sont différents de ceux obtenus par H.-S. Purchase et coll. (1953) sur du virus lapinisé lyophilisé inoculé à des bovins.

En effet, ce virus, dès la fin de fabrication, vaccine à la dose de 0,0002 g et des lots semblables du même virus, conservés pendant six à quatorze mois et demi, vaccinent encore à la même dose. Il n'y a donc pas de perte de titre au cours de cette période (l'humidité résiduelle des lots de vaccin lors de la préparation était de moins de 1 % et le scellement des ampoules avait été effectué sous vide de 0,1 mm de mercure).

LE VIRUS-VACCIN.

Préparation. — Le mode de préparation du virus-vaccin a déjà été exposé dans la première partie de ce mémoire ; nous le complétons par nos propres observations.

Le lapin infecté par voie endoveineuse est sacrifié à l'acmé de la température entre la 52° et la 72° heure.

Tout sujet qui ne présente pas une courbe thermique typique et des lésions nettes est écarté.

Sont prélevés et pesés : la rate, les ganglions mésentériques, axillaires et poplités.

Il n'y a, en effet, aucune raison de ne pas utiliser les ganglions autres que mésentériques, puisque leur valeur antigénique est sensiblement équivalente (voir *supra*). Nous nous limitons aux axillaires et aux poplités parce que leur volume est appréciable, et en fait une source de virus quantitative intéressante.

Le sang (obtenu par ponction cardiaque), débriné (1), est ajouté à la rate et aux ganglions pour servir de liant au moment du broyage. Nous avons remarqué que le broyat rate + ganglions additionné de sang donne, après *freeze-drying*, un produit très homogène, lorsqu'il est remis en suspension, et très aisément injectable. Il n'en est pas de même, du moins en ce qui concerne l'homogénéité, lorsque le sang est remplacé par du sérum physiologique (2).

(1) et non citraté.

(2) Nous verrons que, lors de la congélation-déshydratation sous vide, la présence des ions Na⁺ influe sur la qualité de la virulence du produit.

Le sang est ajouté dans la proportion de quatre à cinq fois le poids frais des organes à broyer. C'est ainsi qu'en moyenne, la rate et les ganglions représentent 4 g de matériel frais et sont additionnés de 16 à 20 g de sang défibriné.

Le broyat total est placé dans un broyeur type « Waring blender », préalablement réfrigéré par un séjour de plusieurs heures à -20°C . Le broyage dure environ quatre à cinq minutes.

La réfrigération préalable du « Waring blender » est rendue nécessaire par l'échauffement apparaissant au cours des broyages effectués à la température ambiante. Celle-ci étant de 25°C par exemple, à Dakar en certaines saisons, la masse du broyat est à 35°C au bout de quelques minutes et les risques d'altération du virus ne sont alors pas négligeables.

Il est aussi recommandé d'éviter le stockage prolongé des organes à broyer, même à -20°C car la virulence peut diminuer sensiblement.

Le broyat est ensuite filtré sur gaze (la filtration sur laine de verre, coton hydrophile, ne nous donne pas satisfaction, les pertes d'antigène retenu par ces filtres étant trop importantes).

La verrerie utilisée pour la filtration est également maintenue au froid avant l'emploi.

La répartition en ampoules est pratiquée en chambre froide, à raison de 2 cm³ de suspension par ampoule.

Au début de notre expérimentation, nous avons dilué le broyat rate-sang-ganglions avec du sérum physiologique. Celui-ci diminuant la viscosité et la concentration, diminuait les pertes par filtration et les erreurs de répartition au moment du pipetage de la suspension dans les ampoules soumises à la dessiccation.

Cette adjonction est maintenant abandonnée à la suite de la mesure des pertes de virulence par lyophilisation (voir chapitre « Détermination des pertes par lyophilisation »).

CONGÉLATION ET DESSICCATION SOUS VIDE (LYOPHILISATION).

Il n'est pas douteux que la seule façon de vulgariser dans un aussi vaste territoire que l'A.O.F., le virus lapinisé, est de préparer un produit congelé, desséché sous vide. Le stockage sous froid pendant plusieurs mois est possible sans perte sensible de la valeur antigène de virus-vaccin.

Mais la lyophilisation n'est valable que si les opérations successives sont pratiquées avec une grande rigueur technique.

Quant à la méthode d'immunisation par le « Wet virus » (virus frais), elle ne peut avoir qu'un emploi limité.

TECHNIQUE DE LYOPHILISATION.

Avant de faire connaître les résultats obtenus avec le produit desséché, il nous paraît indispensable de donner quelques renseignements sur la méthode employée.

La suspension virulente est répartie à raison de 2 cm³ par ampoule dans une chambre froide à $+4^{\circ}\text{C}$. Le matériel est ensuite congelé et desséché sous vide dans un appareil commercial de fabrication étrangère construit en 1950.

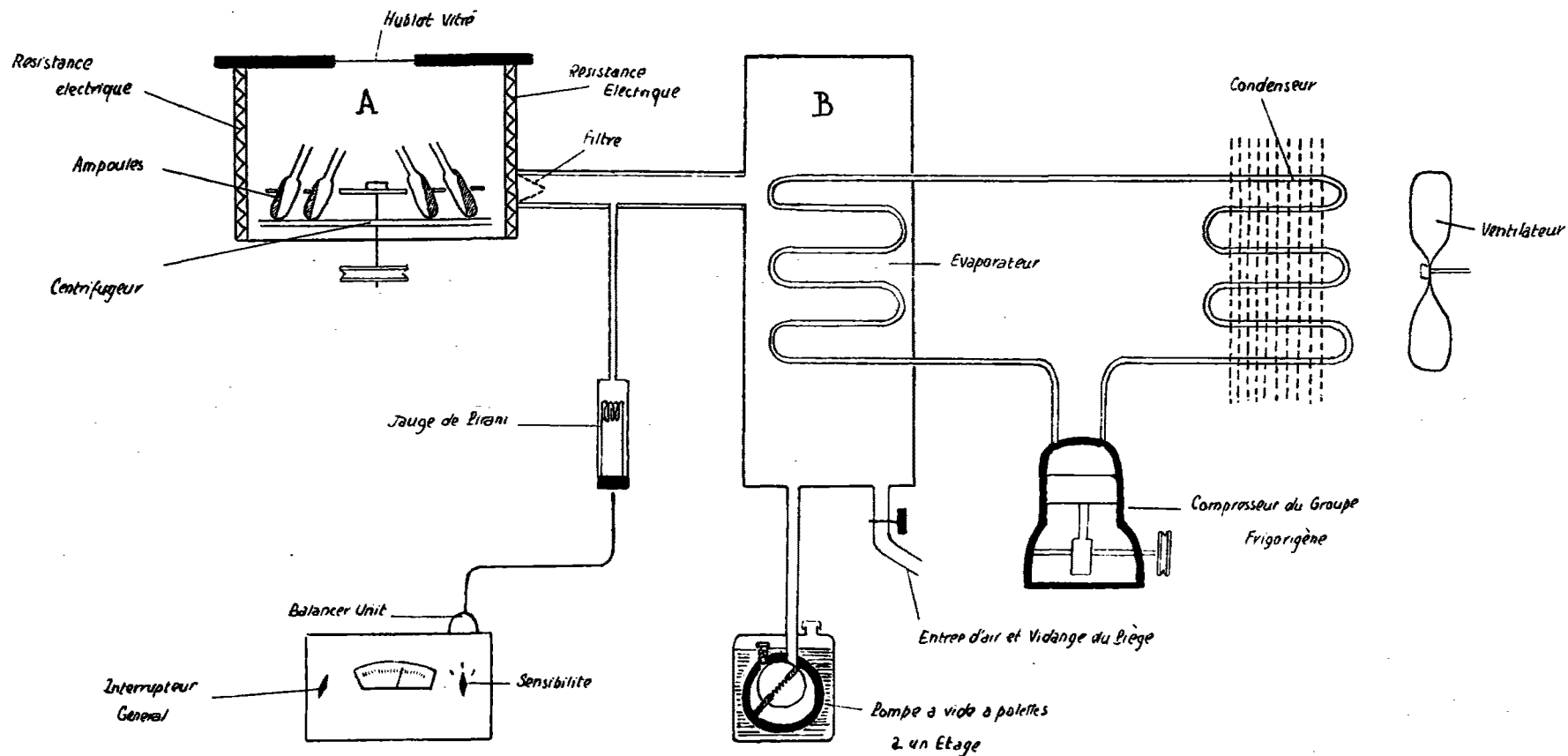
Congélation. — Elle s'effectue par *self freezing*. Les ampoules sont placées dans des orifices circulaires régulièrement répartis sur un plateau horizontal fixé sur l'axe d'un moteur électrique. Le dispositif centrifugeur est contenu dans la chambre de dessiccation primaire (voir schéma 1). Lorsque la température du piège à froid (B) est inférieure à -20°C , la pompe à vide est branchée. La diminution de pression au-dessus des ampoules provoque une évaporation suffisamment intense pour amener la température de l'émulsion virulente au-dessous de son point de congélation. Pour éviter une ébullition violente ou la servitude d'un dégazage préliminaire du matériel, la formation sous l'influence du vide des bulles à partir des gaz dissous est inhibée par centrifugation selon la méthode de Greaves. La vitesse de rotation du plateau est de 750 tours/minute.

Au cours du *self freezing*, la température du piège à froid s'élève, atteint un maximum inférieur à 0°C et s'y maintient pendant quelques minutes. L'examen de la jauge de Pirani montre que le vide conserve une valeur relativement élevée. Lorsque la congélation est obtenue, soit après trois à cinq minutes, la température du piège s'abaisse tandis que le vide atteint rapidement des valeurs de l'ordre de 0,1 mm Hg.

La centrifugation est alors arrêtée. Le produit congelé est plaqué latéralement dans l'ampoule. Cette disposition, augmentant la surface d'évaporation, favorise les dessiccations ultérieures. L'évaporation au cours du *self freezing* représente 10 à 15 % de l'eau de la suspension virulente.

La dessiccation s'effectue en deux temps. Dans un premier temps, la vapeur d'eau provenant de la sublimation de la glace formée par la congélation du matériel à dessécher est bloquée par un piège à froid (cylindre étanche branché sur le vide et parcouru par l'évaporateur d'un groupe frigorigène, voir schéma 3).

Dans un deuxième temps, on parfait la dessiccation en appliquant au matériel le vide poussé d'une pompe à palette à deux étages, la vapeur d'eau étant arrêtée par un piège à anhydride phosphorique.



SCHEMA 1.- Representation schematique de l'appareil a desiccation sous vide et froid utilise au Laboratoire Federal de l'Elevage a DAKAR.- Dessiccation primaire

- A. Chambre de Self freezing et de dessiccation primaire
- B. Pige a froid bloquant la vapeur d'eau degagee en A

Dessiccation primaire. — Au cours de celle-ci, la température du piège, après une à deux heures de fonctionnement, diminue pour atteindre — 50° à — 55° C et s'y maintient jusqu'à la fin de l'opération.

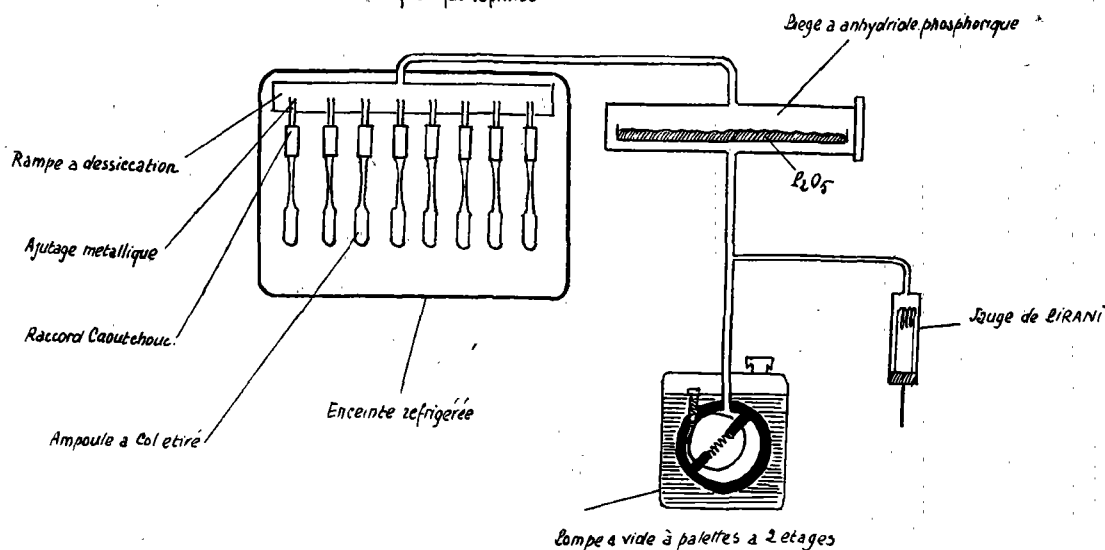
Le vide augmente beaucoup plus lentement, et atteint 35 à 40 μ . de Hg après quinze à seize heures de dessiccation. Le vide est évidemment fonction de la tension de vapeur de la glace bloquée au niveau du piège, et par conséquent de la température au niveau de l'évaporateur. Un vide de 35 μ . s'obtient en principe pour une température de — 50° C.

La température du produit subit un certain nombre de fluctuations résultant des échanges thermiques s'établissant entre celui-ci et la chambre. Elle est

virulente sont résumées dans le tableau ci-dessous, donné en exemple :

SELF FREEZING		TEMPÉRATURE ambiante	TEMPÉRATURE du produit
Temps	0	+ 25° C	+ 26° C
—	+ 10 m.....	+ 25° C	— 20° C
—	+ 3 h. 30....	+ 23° C	+ 8° C
—	+ 5 h.....	+ 22° C	+ 16° C
—	+ 8 h.....	+ 22° C	+ 20° C
—	+ 16 h.....	+ 21° C	+ 21° C

SCHEMA 2. — Représentation schématique du montage utilisé au Laboratoire Fédéral de l'Élevage pour la dessiccation secondaire du Virus bovine pestique lapinisé



fonction de l'intensité de la sublimation qui, absorbant de la chaleur, tend à la diminuer, et de la température de la chambre qui, supérieure à la température de congélation de la suspension virulente, tend à l'échauffer. On obtient ainsi deux phases :

1° Refroidissement : la sublimation, très active, absorbe plus de chaleur que n'en apporte la température de la chambre. La température du matériel est inférieure à — 20° C.

2° Réchauffement : la sublimation diminue d'intensité avec la diminution de la teneur en eau du matériel. Le milieu ambiant apporte plus de chaleur que n'en nécessite la sublimation, le produit se réchauffe.

Les variations de la température de la suspension

On remarque que trois heures et demie après le début de la dessiccation, la température est déjà bien supérieure à 0° et atteint pratiquement la valeur de la température ambiante après huit heures. La dessiccation avec l'appareil dont nous disposons demande donc un séjour prolongé à une température relativement élevée, circonstance défavorable *a priori* pour la conservation du virus.

La dessiccation peut être accélérée par la mise en œuvre d'une résistance chauffante entourant la paroi externe de la chambre de dessiccation. Elle est réglée pour maintenir automatiquement une température de 37° dans l'enceinte. Cette température nous paraissant trop élevée pour un virus aussi fragile que le virus lapinisé, nous n'utilisons pas ce procédé

La durée de dessiccation est fixée à vingt-deux heures. Elle est poursuivie pendant six heures après que le vide a atteint sa valeur maxima.

Dessiccation secondaire. — Les ampoules retirées de la chambre de dessiccation primaire sont étirées et ainsi prêtes pour la dessiccation secondaire.

Le dispositif de dessiccation secondaire prévu sur l'appareil dont nous disposons, est constitué par une série de rampes verticales portant des ajutages coniques en caoutchouc disposés horizontalement et destinés à recevoir les ampoules. Ce mode de fixation s'est révélé imparfait, et à l'origine de fuites nombreuses rendant impossible toute dessiccation.

De plus, cette dernière s'effectuerait à la température ambiante dont les effets nocifs pour le virus sont à craindre.

Ce système a donc été abandonné.

Actuellement, nous projetons d'employer un montage fabriqué sur place. Il est constitué par une série de rampes métalliques portant des ajutages verticaux sur lesquels sont fixées des ampoules grâce à un raccord en caoutchouc. Ces rampes sont placées dans une enceinte réfrigérée et mises en connection avec un piège à anhydride phosphorique sur lequel est branchée une pompe à palettes à deux étages.

Remarque particulière sur la mesure du vide. — Il est à remarquer que les indications du vide données par une jauge de Pirani ne sont qu'approximatives. En effet, cet appareil utilise directement ou indirectement la conductivité thermique des gaz résiduels présents dans l'appareil. Il est constitué par un filament chauffant dont la température est fixée par le taux de l'irradiation calorifique dont il est le siège, et par conséquent, par l'atmosphère gazeuse qui l'entoure. Les variations de température du filament s'accompagnent de modifications de la résistance de celui-ci.

Or, la vapeur d'eau conduit beaucoup plus la chaleur que l'air à la même pression : la tension de vapeur d'eau dans le système variant au cours de la dessiccation, il est évident que la jauge de Pirani ne constitue qu'un moyen approximatif de mesure.

La température du filament est également fonction de la température extérieure. Celle-ci modifie l'intensité de la déperdition calorifique du filament. Il suffit de poser la main sur la jauge pour que diminue l'indication de vide donnée par la lecture directe du cadran.

Humidité résiduelle. — L'humidité résiduelle du matériel virulent soumis à la dessiccation sous froid est appréciée par gravimétrie. Le produit desséché, pesé au 1/10 de mg, est soumis pendant quarante-huit heures à l'action conjuguée du vide et de la

chaleur. La mesure est effectuée dans une étuve à vide circulaire Chopin, réglée à 50° et branchée sur une pompe à vide à un étage Cenco. Un piège à anhydride phosphorique est intercalé entre l'étuve et la pompe. Le poids du matériel desséché utilisé dans cette mesure est de l'ordre de 1 g. (c'est le minimum exigé par les instructions du National Institute of Health).

L'humidité résiduelle ainsi mesurée ressort pour une dessiccation sur piège froid de vingt-deux heures à 1,3 %.

DÉTERMINATION DES PERTES PAR LYOPHILISATION.

Ces pertes nous ayant paru trop importantes pour la « rentabilité » de la vaccination par virus sec, nous avons recherché à améliorer la technique, d'une part en apportant le maximum de soins aux manipulations (la dessiccation est maintenant effectuée en chambre froide à + 2-+ 4° C pour éviter l'échauffement du virus en fin de lyophilisation), d'autre part en recherchant l'influence du sérum physiologique sur la valeur du produit.

Ceci nous a conduit aux opérations suivantes :

- 1° Détermination de la D.M.I. du matériel frais.
- 2° Détermination de la D.M.I. du matériel desséché avec adjonction de sérum physiologique (1).
- 3° Détermination de la D.M.I. du matériel desséché sans adjonction de sérum physiologique.

Les résultats sont consignés dans les tableaux ci-dessous :

Protocole. — Détermination sur lyophilisation, lot n° 25 :

Poids des organes frais.....	803 cg
Sang.....	40 cm ³
Charge au cm ³	20 cg

8 ampoules reçoivent le matériel frais sans sérum physiologique à raison de 2 cm³ par ampoule (40 cg de matériel frais).

18 ampoules sont chargées avec le matériel frais + sérum physiologique à raison de 2 cm³ par ampoule (16 cg de matériel frais).

Technique de dilution au sérum physiologique :

Émulsion virulente : 16 cm³, soit 320 cg de matériel frais.

Sérum physiologique : 24 cm³-40 cm³, 2 cm³ par ampoule, soit 16 cg de matériel frais par ampoule.

La présence de sérum physiologique au cours de la dessiccation perturbe la régularité des résultats, et prolonge le temps nécessaire pour obtenir l'hyperthermie.

(1) Sérum physiologique ajouté ordinairement au cours du broyage des organes.

TABLEAU V. — D.M.I. matériel frais (Lot n° 25)

LAPINS numéro	DATE	DOSE mg	VOIE	TEMPÉRATURE d'inoculation	TEMPS d'incubation	TEMPÉRATURE maximum	TEMPS maximum	LÉSIONS	OBSERVATIONS
					heures		heures		
271	13-10-53	10 ⁻²	I.V.	39°4	48	40°9	50	Typiques	Résultat positif.
272	13-10-53	10 ⁻²	I.V.	39°3	48	41°	74	id.	id.
273	13-10-53	2.10 ⁻²	I.V.	39°4	50	40°7	72	id.	id.
274	13-10-53	2.10 ⁻²	I.V.	38°9	48	41°2	72	id.	id.
275	13-10-53	3.10 ⁻²	I.V.	39°2	54	41°1	74	id.	id.
276	13-10-53	3.10 ⁻²	I.V.	39°5	48	41°	54	id.	id. DMI \geq 10 ⁻² mg.
277	13-10-53	4.10 ⁻²	I.V.	38°7	48	40°8	74	id.	id.
278	13-10-53	4.10 ⁻²	I.V.	38°9	54	40°7	72	id.	id.
279	13-10-53	5.10 ⁻²	I.V.	39°5	48	41°	72	id.	id.
280	13-10-53	5.10 ⁻²	I.V.	38°8	48	41°1	50	id.	Mort accidentellement dans la nuit du 16-17.
281	13-10-53	10 ⁻¹	I.V.	39°5	48	41°1	72	id.	Résultat positif.
282	13-10-53	10 ⁻¹	I.V.	39°4	48	41°1	58	id.	id.

TABLEAU VI. — D.M.I. matériel desséché avec sérum physiologique (Lot n° 25)

LAPINS numéro	DATE	DOSE en mg	VOIE	TEMPÉRATURE d'ino- culation	TEMPS d'incubation	TEMPÉRATURE maximum	TEMPS maximum	LÉSIONS	RÉSULTATS	OBSERVATIONS
311	26-10-53	1,1. 10 ⁻²	I.V.	39°5	heures	»	heures	»	—	Pas de réaction thermique.
312	26-10-53	1,1. 10 ⁻²	I.V.	39°1	»	»	»	»	—	id.
313	26-10-53	1,25. 10 ⁻²	I.V.	39°1	»	»	»	»	—	id.
314	26-10-53	1,25. 10 ⁻²	I.V.	39°4	»	»	»	»	—	id.
315	26-10-53	1,45. 10 ⁻²	I.V.	39°4	»	»	»	»	—	id.
316	26-10-53	1,45. 10 ⁻²	I.V.	39°5	»	»	»	»	—	id.
317	26-10-53	1,66. 10 ⁻²	I.V.	39°	»	»	»	»	—	id.
318	26-10-53	1,66. 10 ⁻²	I.V.	39°5	»	»	»	»	—	id.
319	26-10-53	2. 10 ⁻²	I.V.	39°4	»	»	»	»	—	id.
320	26-10-53	2. 10 ⁻²	I.V.	39°5	60	40°6	84	»	?	Réaction tardive. Hyperthermie faible.
321	26-10-53	2,5. 10 ⁻²	I.V.	39°3	48	41°	84	Typiques	+	Réaction tardive.
322	26-10-53	2,5. 10 ⁻²	I.V.	38°9	»	»	»	Aucune	—	Pas de réaction thermique.
323	26-10-53	3,3. 10 ⁻²	I.V.	39°2	»	»	»	Aucune	—	id.
324	26-10-53	3,3. 10 ⁻²	I.V.	39°3	72	40°7	84	Peu marquée	+	Réaction tardive. Sacrifié le 3-11-53.
325	26-10-53	5. 10 ⁻²	I.V.	39°5	72	40°8	108	id.	+	id.
326	26-10-53	5. 10 ⁻²	I.V.	38°9	60	40°8	108	id.	+	id.
327	26-10-53	10 ⁻¹	I.V.	39°4	48-60	40°5	60	Nettes	+	Réaction pendant 48 heures. Sacrifié le 3-11-54.
328	26-10-53	10 ⁻¹	I.V.	39°	»	40°	60	Aucune	—	Réaction douteuse.

TABLEAU VII — D.M.I. matériel desséché sans sérum physiologique (Lot n° 25)

LAPIN numéro	DATE	DOSE en mg.	VOIE	TEMPÉRATURE d'inoculation	TEMPS d'incubation	TEMPÉRATURE maximum	TEMPS maximum	LÉSIONS	RÉSULTATS	OBSERVATIONS
					heures		heures			
285	19-10-53	10 ⁻²	I.V.	39°7	»	»	»	0	»	Sacrifié le 26-10 : aucune lésion.
286	19-10-53	10 ⁻²	I.V.	39°2	»	»	»	0	»	id.
287	19-10-53	1.1. 10 ⁻²	I.V.	38°9	132	40°7	144		?	Réaction tardive.
288	19-10-53	1.1. 10 ⁻²	I.V.	39°3	60	41°1	64		+	Animal laissé en observation.
289	19-10-53	1.25. 10 ⁻²	I.V.	39°2	60	40°9	64		+	Animal laissé en observation : 48 heures d'hyperthermie.
290	19-10-53	1.25. 10 ⁻²	I.V.	39°	60	40°7	64		+	Laissé en observation : 2° max. 41°1 à 96 h.
291	19-10-53	1.45. 10 ⁻²	I.V.	39°1	48-60	40°5	60	+	+	Mort le 25-10 : lésions typiques.
292	19-10-53	1.45. 10 ⁻²	I.V.	39°5	48-60	41°1	66		+	Laissé en observation : 72 heures en hyperthermie.
293	19-10-53	1.65. 10 ⁻²	I.V.	38°7	36	41°1	62	+	+	Mort le 25-10 : lésions typiques.
294	19-10-53	1.65. 10 ⁻²	I.V.	39°1	48	40°7	60		+	Laissé en observation.
295	19-10-53	2. 10 ⁻²	I.V.	39°2	48	40°5	62		+	Laissé en observation.
296	19-10-53	2. 10 ⁻²	I.V.	39°1	36	40°6	60	+	+	Mort le 25-10 : lésions typiques.
297	19-10-53	2.5. 10 ⁻²	I.V.	39°3	»	»	»		?	Réaction thermique vraisemblable la nuit entre 48 et 60 heures.
298	19-10-53	2.5. 10 ⁻²	I.V.	39°3	64	41°	96		+	Laissé en observation.
299	19-10-53	3.3. 10 ⁻²	I.V.	39°2	60	41°	62	+	+	Mort le 26-10 : lésions typiques.
300	19-10-53	3.3. 10 ⁻²	I.V.	39°1	48	41°	62		+	Laissé en observation : 4 jours en hyperthermie.
301	19-10-53	5. 10 ⁻²	I.V.	39°5	48	41°1	66	+	+	Mort le 25-10 : lésions typiques.
302	19-10-53	5. 10 ⁻²	I.V.	39°2	48	41°1	66	+	+	Mort le 26-10 : lésions typiques.
303	19-10-53	10 ⁻¹	I.V.	39°1	48	41°2	64		+	Laissé en observation : 5 jours hyperthermie.
304	19-10-53	10 ⁻¹	I.V.	39°2	48	40°8	66		+	Laissé en observation : 5 jours hyperthermie.

Les doses inoculées correspondent à l'équivalent en poids frais : un lapin inoculé avec 1.10⁻² mg est en réalité éprouvé avec le produit provenant de la dessiccation de 1.10⁻² mg de matériel virulent frais.

La dose minima infectante est de 1.25.10⁻² mg. Un gramme de produit virulent frais, qui contenait 100.000 doses avant dessiccation, ne fournit plus que 80.000 doses après lyophilisation.

La perte par lyophilisation est donc de 20.000 doses, soit 20 %.

La dose minima infectante est de 5.10^4 mg. 1 g de matériel frais qui contenait 100.000 doses minima infectantes pour le lapin, ne contient plus que 20.000 doses, soit une perte de 80.000 doses.

La perte par lyophilisation en présence de sérum physiologique est de l'ordre de 80 %.

En conclusion, les pertes par lyophilisation peuvent être réduites, en éliminant le sérum physiologique pour la dilution et en utilisant exclusivement le sang, à 20 %.

RÉCUPÉRATION DU VIRUS DANS LA VAPEUR D'EAU CONDENSÉE AU COURS DE LA DESSICCATION.

Nous avons répété l'expérience de A.-L.-C. Thorne (1953) qui réussit à déceler les virus pestiques caprinisés et lapinisés dans la vapeur d'eau condensée au cours de la dessiccation de ces virus.

Quatre sujets inoculés en intraveineuse avec 5 cm³ d'eau de condensation n'ont pas réagi. En conséquence, si le virus existe, ce ne peut être qu'en très faible quantité. Ces recherches méritent cependant d'être poursuivies.

B) SUR LE BŒUF (vaccination).

Nous avons tenté diverses expériences qui ne furent pas toutes heureuses.

Tout d'abord, tenant pour acquis les résultats des divers expérimentateurs, nous avons, pour gagner du temps (ce qui est toujours une erreur), considéré comme convenables les doses vaccinales en matériel sec annoncées. Nous avons alors enregistré plusieurs échecs, dus :

- 1° à une technique de lyophilisation imparfaite,
- 2° à des doses insuffisantes,
- 3° à des sujets de réceptivité variable.

Nous ne tenons pas, en effet, pour valables, comme le font trop souvent nombre d'auteurs, des expériences qui, lors du contrôle, montrent une certaine résistance des vaccinés, mais aussi de plusieurs sujets témoins (sur 5 témoins par exemple, 3 résistent à l'infection !).

LE PRODUIT LYOPHILISÉ.

Ainsi que nous l'avons noté, le produit lyophilisé se présente sous l'aspect d'une poudre brun rougâtre. Sa reconstitution en présence de sérum salé isotonique est aisée, particulièrement lorsqu'on utilise, pour le broyage des organes, exclusivement le sang.

Si, lors des opérations de broyage, on emploie l'eau physiologique à l'exclusion du sang, la reconstitution du produit donne une suspension hétérogène présentant des particules blanches, gélatineuses, relativement volumineuses.

TESTS DU VIRUS-VACCIN LYOPHILISÉ SUR LAPIN.

Les tests de virulence sont effectués dans les jours qui suivent la dessiccation. Le virus lyophilisé, mis en suspension dans de l'eau physiologique, est injecté, à des doses variées, à des lapins, dans la veine marginale de l'oreille. Les températures des sujets sont prises dans les mêmes conditions que lors des passages; ils sont ensemble sacrifiés, et les lésions examinées.

In fine, après avoir amélioré la technique de dessiccation, apporté un soin particulier à la recherche d'animaux sensibles au virus pestique normal, nous avons pu obtenir des résultats de vaccination positifs.

21 veaux, neufs, sont divisés en 3 lots :

- 8 sont vaccinés avec du matériel frais,
- 10 sont vaccinés avec du matériel lyophilisé,
- 3 servent de témoins.

Tous les animaux sont éprouvés treize jours après la vaccination par l'inoculation sous-cutanée d'une suspension en eau physiologique de matériel virulent desséché (rate, sang, ganglion poplité, ganglions mésentériques de veau pestique) à raison de 22 cc par animal. Les résultats obtenus sont les suivants (cf. Tableau VIII, p. 162).

DISCUSSION

Les expériences concernant la dose minima vaccinale seront poursuivies au laboratoire. Nos premiers résultats ne constituent en effet, que des indications. Par contre, les données obtenues dans la détermination des doses minima infectantes pour le lapin supportent mieux la discussion et la comparaison. Rappelons ici brièvement que si le sang frais révèle une virulence équivalente à celle déterminée par Cheng en 1949, et que celle des ganglions est du même ordre de grandeur que la virulence observée par cet auteur pour ce matériel infectant, le mélange sang-rate-ganglions de Dakar est dix fois moins

riche en virus que le mélange sang-rate-ganglions de Brotherston, et les ganglions de Dakar quatre à quarante fois moins riches que les ganglions mésentériques utilisés par ce dernier expérimentateur.

On sait, comme nous l'avons relaté au début de cet article, que toutes les souches de virus lapinisé utilisées en Chine, en Afrique, etc., proviennent de la souche Nakamura III.

Devant les résultats moins heureux obtenus par nous avec la souche dont nous disposons, nous avons pensé que cette souche pouvait s'être modifiée en s'atténuant. Nous avons donc demandé à M. Simpson,

TABLEAU VIII

VEAU numéro Série C	RACE	VACCINÉ le	DOSE matériel frais	DOSE matériel lyophilisé	RÉACTION VACCINALE	CONTRÔLÉ le	DOSE virus de contrôle en cg sec	RÉSULTAT	OBSERVATIONS
0	Zébu	Témoin	»	»	»	22-10-53	22	Mort	9 ^e jour après inoculation : symptômes et lésions typiques.
1	Taurin	id.	»	»	»	id.	id.	id.	id.
2	id.	id.	»	»	»	id.	id.	id.	7 ^e jour : lésion valvule iléo-cæcale et cæcum.
3	id.	9-10-53	1 cg	»	Légère : 5 ^e au 9 ^e jour	id.	id.	Immunisé	Aucune réaction.
4	id.	id.	1 —	»	Légère : 5 ^e au 7 ^e jour	id.	id.	id.	Aucune réaction thermique après contrôle.
5	id.	id.	1 —	»	id.	id.	id.	id.	id.
6	id.	id.	2 —	»	Pas de réaction	id.	id.	id.	id.
7	id.	id.	2 —	»	Légère : du 4 ^e au 8 ^e jour	id.	id.	id.	id.
8	id.	id.	2 —	»	Du 5 ^e au 10 ^e jour (1)	id.	id.	id.	id.
9	id.	id.	3 —	»	Légère : 5 ^e au 10 ^e jour	id.	id.	id.	id.
10	id.	id.	3 —	»	Du 5 ^e au 9 ^e jour (2)	id.	id.	id.	id.
11	id.	id.	»	1 cg	Température légère : 5 ^e au 9 ^e jour	id.	id.	id.	id.
12	id.	id.	»	1 cg	Légère : 5 ^e au 10 ^e jour	id.	id.	id.	id.
13	id.	id.	»	2 —	Température légère, fugace	id.	id.	id.	id.
14	id.	id.	»	2 —	Légère : 4 ^e au 10 ^e jour (3)	id.	id.	id.	id.
15	id.	id.	»	3 —	Légère : 5 ^e au 10 ^e jour	id.	id.	id.	Clocher 40°7, le soir, 5 ^e jour après contrôle.
16	id.	id.	»	3 —	Température légère : 4 ^e au 10 ^e jour	id.	id.	id.	Aucune réaction thermique après contrôle.
17	id.	id.	»	4 —	Température faible : 4 ^e au 7 ^e jour	id.	id.	id.	id.
18	id.	id.	»	4 —	Légère : 5 ^e au 10 ^e jour (4)	id.	id.	id.	id.
19	id.	id.	»	5 —	Légère : 4 ^e au 9 ^e jour	id.	id.	id.	Clocher 40°1, le soir, 3 ^e jour, après contrôle.
20	id.	id.	»	5 —	Légère : 3 ^e au 8 ^e jour (5)	id.	id.	id.	Aucune réaction thermique après contrôle.

(1) Température rectale au soir du 5^e jour : 40°6.
(2) id. au matin du 8^e jour : 40°4.
(3) id. au soir du 4^e jour : 40°2.

(4) Température rectale au soir du 4^e jour : 40°1.
(5) id. au soir du 5^e jour : 40°3.

Directeur des Services Vétérinaires de Gold Coast, de nous adresser par avion, en thermos, un échantillon de la souche utilisée par lui (1). Reçue le 28 octobre, nous l'avons immédiatement passée sur quatre sujets qui ont réagi normalement et nous avons déterminé séparément pour le sang, la rate, les ganglions, la D.M.I.

Voici les résultats (cf. Tableaux IX, X et XI, P. 164).

Nous obtenons sensiblement les mêmes résultats qu'avec la souche de Dakar. Il semblerait donc utile que les différents auteurs exposent leurs conditions et leur protocole d'expérience. Rappelons que les prélèvements sont effectués ici à l'acmé de la température. D'autre part, nous avons déjà défini ce que nous considérons comme la D.M.I. Il nous paraît indispensable que la réaction thermique ne s'écarte pas trop des délais normaux. Nous avons pu, en effet, constater qu'il était possible d'infecter des lapins avec des doses très faibles de virus. L'hyperthermie est alors considérablement retardée. On peut penser que le virus, cultivant chez un animal particulièrement réceptif, arrive au bout d'un certain temps, à une concentration suffisante pour franchir le « seuil » d'infection. Nous n'avons pas tenu compte de ces résultats dans la détermination de nos D.M.I.

Ces observations perdraient de leur importance pratique si différents auteurs n'avaient cherché à relier la D.M.I.-lapin à la valeur de la dose minima vaccinante pour les zébus et les taurins. A ce sujet, et bien que nous n'ayons pas déterminé cette dernière à Dakar, nous attirons l'attention sur la nécessité de posséder, pour les expériences de contrôle, des animaux sensibles à la peste normale. La détection de ces animaux, en particulier chez les zébus d'A.O.F., reste difficile et nous cherchons actuellement une technique de neutralisation du virus par le sang des sujets prévus pour les contrôles, afin de pouvoir tester facilement les animaux « tout venants ». L'inoculation d'épreuve, sévère, doit entraîner la mort des témoins, ou à l'extrême rigueur, le développement d'une peste classique. Une simple hyperthermie, à l'exclusion de signes mieux définis d'infection, est pour nous insuffisante.

La dose vaccinale obtenue par nous avec du matériel frais, soit 1 cg (qui n'est pas, soulignons-le, la dose minima vaccinale), reste dix fois plus forte que celle avancée par Brotherston (1951) : 1 mg (2).

(1) Nous sommes très reconnaissants à M. S. Simpson de cet envoi. Nous regrettons vivement le départ à la retraite de ce confrère britannique avec lequel nous avons collaboré à diverses reprises dans les meilleurs conditions.

(2) Encore que ces résultats soient moins nets

D'ailleurs, dans la pratique, c'est la dose de 1 cg qui est utilisée pour la vaccination.

Pour la dose vaccinale avec du matériel lyophilisé, la différence reste la même : la dose vaccinale (qui n'est pas, répétons-le, la dose minima) est pour nous de 1 cg, celle de Brotherston (1951) de 1 mg, et Purchase et coll. (1953) indique même 1/10 de mg.

Sa valeur est étroitement fonction des pertes par lyophilisation. Il est regrettable que les conditions dans lesquelles s'effectue cette opération n'aient pas fait l'objet de quelques précisions dans les publications que nous avons pu consulter, surtout lorsque l'on considère la faible quantité de matériel nécessaire pour obtenir l'immunisation dans les expériences de Purchase et coll. Cet oubli rend particulièrement difficile la confrontation des résultats obtenus par les différents chercheurs, et nuit à la possibilité de reproduction de ces observations en dehors du laboratoire où elles ont été effectuées.

Remarquons par ailleurs, que nous avons tenu compte en partie, pour la fixation des doses de virus lyophilisé, des pertes par lyophilisation que nous estimions jusqu'alors à 75 %.

L'amélioration de la technique réduisant maintenant les pertes à 20 %, c'est donc 3 mg environ qui deviendrait la dose sûrement vaccinale.

De sorte qu'un lapin donnerait, en moyenne, 400 doses vaccinales en frais ou 300 doses vaccinales lyophilisées.

Nos travaux ultérieurs auront pour but de serrer de plus près la réalité, pour augmenter encore le « rendement » vaccinal par lapin.

D'ores et déjà, il se dégage de nos recherches :

1° Le virus pestique lapinisé est un virus fragile qui exige des manipulations délicates et des contrôles fréquents pour vérifier la permanence de la qualité de la virulence. Dans le cas contraire, au cours de vaccinations massives, on risque d'inoculer un virus tué ou très atténué, et par là même, donner aux praticiens et aux éleveurs d'animaux, une fausse sécurité.

2° La lyophilisation du virus, seul moyen permettant de vulgariser cette méthode vaccinale, reste une opération délicate, particulièrement lorsqu'il s'agit de fabriquer de grosses quantités de vaccin. Seuls, des laboratoires bien outillés et ayant un personnel rompu aux techniques les plus récentes, sont en mesure de livrer un produit régulièrement efficace.

3° L'écueil principal pour obtenir des stocks importants de vaccin est la « production » d'un

que les nôtres; en effet, les quatre témoins qu'il utilise pour le contrôle évoluent ainsi : 1, aucune réaction; 2, réaction mais survie; 1 meurt de peste.

TABLEAU IX — D.M.I. rate lapin (souche Gold Coast)

LAPIN numéro	DATE	DOSE en mg	TEMPÉRATURE d'inoculation	TEMPS incubation	TEMPÉRATURE maximum	TEMPS maximum	LÉSIONS	RÉSULTAT	OBSERVATIONS
				heures		heures			
331	27-10-53	1	39°3	36	41°	60	Typiques	+	»
332	27-10-53	1	39°2	36	41°3	60	id.	+	»
333	27-10-53	10 ⁻¹	39°7	48	41°3	60	id.	+	Mort le 5 ^e jour après l'inoculation.
334	27-10-53	10 ⁻¹	39°2	36	41°1	63	id.	+	»
335	27-10-53	10 ⁻²	39°7	»	40°	48	0	—	»
336	27-10-53	10 ⁻²	39°4	36	40°5	48	Typiques	?	»
337	27-10-53	10 ⁻³	39°6	»	»	»	0	—	Pas de réaction thermique.
338	27-10-53	10 ⁻³	39°8	»	»	»	0	—	id.

La dose minima infectante pour le bain est comprise entre 1/10 et 1/100 de mg de rate fraîche.

TABLEAU X — D. M. I. sang lapin (souche Gold Coast)

LAPIN numéro	DATE	DOSE en mg	TEMPÉRATURE d'inoculation	TEMPS incubation	TEMPÉRATURE maximum	TEMPS maximum	LÉSIONS	RÉSULTAT	OBSERVATIONS
				heures		heures			
341	3-11-53	10 ⁻³	39°1	48	41°1	72	Typiques	+	»
342	3-11-53	10 ⁻³	39°2	36	41°	34	id.	+	»
343	3-11-53	10 ⁻⁴	38°7	36	40°	60	id.	+	D.M.I. = 10 ⁻⁴ cm ³ sang normal.
344	3-11-53	10 ⁻⁴	38°5	24	39°7	48	id.	+	»
345	3-11-53	10 ⁻⁵	38°7	»	»	»	»	0	Pas de réaction thermique.
346	3-11-53	10 ⁻⁵	38°4	»	»	»	»	0	id.

TABLEAU XI — D. M. I. ganglion mésentérique lapin (souche Gold Coast)

LAPIN numéro	DATE	DOSE en cm ³	TEMPÉRATURE d'inoculation	TEMPS incubation	TEMPÉRATURE maximum	TEMPS maximum	LÉSIONS	RÉSULTAT	OBSERVATIONS
				heures		heures			
349	5-11-53	10 ⁻¹	38°5	24	41°4	84	Typiques	+	»
350	5-11-53	10 ⁻¹	38°5	24	41°3	84	id.	+	D.M.I. = 10 ⁻² mg.
351	5-11-53	10 ⁻²	39°1	36	40°5	84	id.	+	»
352	5-11-53	10 ⁻²	38°5	36	40°4	86	id.	+	»
353	5-11-53	10 ⁻³	38°7	»	»	»	»	0	Pas de réaction thermique.
354	5-11-53	10 ⁻³	38°9	»	»	»	»	0	id.
355	5-11-53	10 ⁻⁴	38°9	»	»	»	»	0	id.
356	5-11-53	10 ⁻⁴	38°5	»	»	»	»	0	id.

nombre important de lapins. De nombreux pays, en particulier la Chine, ont signalé cette difficulté. Il est d'ailleurs inutile de compter, en région tropicale, sur les achats aux particuliers, car le prix des sujets est élevé (600 francs C.F.A. à Dakar), et l'offre insuffisante.

C'est le laboratoire lui-même qui doit produire les sujets à inoculer. C'est ainsi que le Laboratoire de Dakar étant chargé de fournir les 1.500.000 doses annuelles nécessaires minimum pour protéger les taurins (bœufs sans bosse (1) du sud Soudan, sud Sénégal, Côte d'Ivoire, Guinée, sud Dahomey), c'est environ 5.000 lapins de 1,500 kg qui devront être produits chaque année.

Nos dispositions sont prises, pour, en 1954, en mettre 3.000 à la disposition du Service de Virologie. (En 1953, nous en avons déjà produit 700 pour l'expérimentation.)

CONCLUSIONS

1° La température des lapins utilisés à Dakar est de $39^{\circ}2 \pm 0^{\circ}42$ le matin, et $39^{\circ}4 \pm 0^{\circ}41$ le soir.

2° L'inoculation de sang virulent frais à la dose de 1 cm³ en intraveineuse chez le lapin provoque, après incubation moyenne de trente-trois heures, une hyperthermie de l'ordre de $41^{\circ}3$, soixante heures après l'inoculation. L'hyperthermie moyenne, par rapport à la température vespérale, du jour de l'inoculation, est de $1^{\circ}8$.

3° Les lésions portent essentiellement sur les formations lymphoïdes des organes de la cavité abdominale. Leur aspect anatomo-pathologique est décrit.

4° Les doses minima infectantes des différents organes lésés déterminées par l'inoculation chez le lapin normal, ont été effectuées à l'aide de matériel frais ou desséché. Ces doses sont comparables à celles de Cheng, mais nettement inférieures à celles observées par Nakamura et Brotherston en ce qui concerne les ganglions et le mélange sang-rate-ganglions utilisé à l'état frais.

5° La technique de lyophilisation du virus lapinisé est décrite telle qu'elle est actuellement effectuée au laboratoire de Dakar. Les pertes de virulence, après dessiccation, sont de l'ordre de 20 %.

6° Des essais de vaccination entrepris sur des taurins, montrent la valeur vaccinnante du mélange

sang-rate-ganglions à la dose de 1 cg (matériel frais ou desséché) vis-à-vis d'une inoculation d'épreuve entraînant la mort des témoins après l'évolution d'une peste classique. Les doses utilisées ne constituent pas les doses minima vaccinnantes dont la détermination fait l'objet de recherches en cours.

(Laboratoire fédéral de l'élevage, Dakar).

BIBLIOGRAPHIE

CURASSON (G.) et DELPY (L.-P.). — **Sur l'immunisation contre la peste bovine par le virus formolé.** *Bull. Soc. Centr. Méd. Vét.* (1926), **79**, 297.

SHOPE (R.-E.), GRIFFITHS (H.-J.) et JENKINS (D.-L.). — **Culture du virus bovinepestique dans l'œuf de poule embryonné.** *Am. Journ. Vet. Res.* (1946), **7**, 135.

BAKER (J.-A.). — **L'infection bovinepestique chez les lapins.** *Am. Journ. Vet. Res.* (1946), **7**, 179.

DUKES (H.-H.). — **La physiologie des animaux domestiques.** Comstock Publ. Co. New-York (1947), 6^e édition.

MORNET (P.). — **Prophylaxie médicale de la peste bovine en Afrique occidentale française. — Le virus vaccin capripéste.** *Bull. Serv. Élevage et Ind. animales A.O.F.* (1948), **1**, 5.

CHENG (S.-C.) et FISHMANN (H.-R.). — **Le virus lapinisé de la peste bovine et son emploi comme vaccin.** *Etude Agricole de la F.A.O.* (1949), n° 8.

DELPY (L.-P.). — **Sur le contrôle de l'immunité et de l'efficacité des vaccins antipestiques.** *Bull. Off. Int. Epiz.* (1950), **33**, 227.

DELPY (L.-P.). — **Les vaccins modernes contre la peste bovine. — Étude comparative des vaccins inactivés et des virus atténués.** *Bull. Off. Int. Epiz.* (1950), **33**, 227.

AIKAWA (S.-K.). — **Volumes des fluides et concentrations des électrolytes chez le lapin normal.** *Am. Journ. Physiol.* (1950), **162**, 695.

Compte rendu de la 5^e conférence vétérinaire Nigeria-Vom, 18-22 (janvier 1951).

BROTHERSTON (J.-G.). — **Le virus lapinisé de la peste bovine est un vaccin.** Quelques observations en Afrique orientale : 1. Expériences de laboratoire. 2. Expériences pratiques. — *Journ. Comp. Path. Thérap.* (1951), **61**, 263 et 285.

(1) Les bœufs sans bosse d'A.O.F., très sensibles à la peste bovine, ne peuvent être immunisés sans danger à l'aide de virus vivants (séro-infection, virus caprinisé, ...). Le virus lapinisé est le seul qui immunise sans provoquer de réactions excessives. L'expérience relatée plus haut a d'ailleurs été faite avec des taurins.

- SCOTT (G.-R.) et BROTHERSTON (J.-G.). — **La vitalité du virus de la peste bovine lyophilisé et son efficacité.** *Journ. Comp. Path. Therap.* (1952), **62**, 108.
- LALANNE (A.). — **Prophylaxie médicale de la peste bovine au Soudan français avec le virus capripestique.** *Bull. Serv. Elev. Ind. Animales A.O.F.* (1952), **5**, 43.
- HUDSON (J.-R.) et WONGSONGSARN (C.). — **L'utilisation des porcs pour la production de virus bovipestique lapinisé.** *Brit. Vet. Journ.* (1952), **106**, 453-Analyse *Vet. Rec.*, **64**, 99.
- BERGEON (P.). — **Peste bovine. Richesse en virus pestique des tissus nerveux et de la moelle osseuse de veaux atteints de peste bovine expérimentale.** *Bull. Soc. Path. Exot.* (1952), **45**, 148.
- MARTIN (L.-A.). — **Sur les techniques d'isolement et d'entretien sur lapin des virus poliomyélictiques. Résultats enregistrés.** *Ann. Inst. Pasteur* (1953), **84**, 481.
- NAKAMURA (J.) et MIYAMOTO (T.). — **Avianisation du virus bovipestique lapinisé.** *Am. Journ. Vet. Res.* (1953), **14**, 307.
- DATTA (S.) et DHANDA (M.-R.). — **Les méthodes récentes de lutte contre la peste bovine et le problème de son éradication de l'Inde.** *Ind. Vet. Journ.* (1951), **27**, 416. Analyse in *Vet. Bull.* (1953), **23**, 248.
- THORNE (A.-L.-C.). — **Récupération des virus pestiques caprinisés et lapinisés à partir de la vapeur d'eau condensée au cours de la dessiccation.** *Nature*, Londres (1953), **171**, 609. Analyse in *Vet. Bull.* (1953), **23**, 411.
- PURCHASE (H.-S.), BURDIN (M.-L.), SCOTT (G.-R.) et BROTHERSTON (J.-G.). — **Les facultés de conservation des vaccins bovipestiques vivants.** *Vet. Rec.* (1953), **65**, 590.